

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра промислової біотехнології

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

_____ Тетяна ТОДОСІЙЧУК

«___» _____ 2020 р.

Дипломний проєкт

на здобуття ступеня бакалавра

за освітньо-професійною програмою «Промислова біотехнологія»

спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»

**на тему: «Технологія виробництва фосфобактерину. Дільниця сушіння
продукту»**

Виконала:

студентка IV курсу, групи БТ-61

Василенко Катерина Андріївна _____

Керівник:

Доц. каф. промислової біотехнології, к.б.н., доцент

Богдан Тетяна Зиновіївна _____

Консультант з Розділу 5. Розрахунок обладнання для проведення
технологічного процесу:

Доц. каф. біотехнології та біоінженерії, к.т.н., доцент

Шибецький Владислав Юрійович _____

Рецензент:

Професор каф. екобіотехнології та біоенергетики, д.т.н., професор

Саблій Лариса Андріївна _____

Засвідчую, що у цьому дипломному
проєкті немає запозичень з праць інших
авторів без відповідних посилань.

Студентка _____

Київ – 2020 року

ВІДОМІСТЬ ДИПЛОМНОГО ПРОЄКТУ

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	Кількість листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проєкт	2	
2	A4	ДП 6105. 00.000 ПЗ	Пояснювальна записка	75	
3	A1	ДП 6105. 01.000 ТК	Технологічна схема	1	
4	A1	ДП 6105. 02.000 ТК	Апаратурна схема	1	
5	A1	ДП 6105. 03.000 ТК	Розпилювальна дискова сушарка	1	

				ДП 6105 00.000.00		
	ПБ	Підп.	Дата			
Розробн.	Василенко К.А.			Відомість дипломного проєкту	Лист	Листів
Керівн.	Богдан Т.З.				1	75
Консульт.	Шибєцький В.Ю.				КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. ПБТ Гр. БТ-61	
Н/контр.						
Зав.каф.	Тодосійчук Т.С.					

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра промислової біотехнології

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Промислова біотехнологія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

_____ Тетяна ТОДОСІЙЧУК

«_27_» лютого 2020 р.

ЗАВДАННЯ

на дипломний проєкт студенту

Василенко Катерині Андріївні

1. Тема проєкту «Технологія виробництва фосфобактерину. Дільниця сушіння продукту», керівник проєкту Богдан Тетяна Зиновіївна, доц., к.б.н., затверджені наказом по університету від «21» травня 2020 р. № 1125-с
2. Термін подання студентом проєкту _____
3. Вихідні дані до проєкту: штам-продуцент *Bacillus megaterium*; сушарка розпилювальна дискова; кінцевий продукт – порошок фосфобактерину у поліетиленових водонепроникних пакетах для агропромисловості.
4. Зміст пояснювальної записки: підібрати і охарактеризувати продуцент для виробництва препарату фосфатмобілізуєчих бактерій «Фосфобактерину»; визначити основні фізико-хімічні характеристики кінцевого продукту та біохімічні основи його виробництва; провести аналіз методів створення високопродуктивних промислових продуцентів, обґрунтувати схему отримання продуценту, що використовується у роботі; скласти матеріальний баланс виробництва, розробити технологічну і апаратурну схему; обґрунтувати вибір конструкції сушарки, здійснити технологічний, конструктивний та тепловий розрахунки.

5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо): креслення загального виду ферментеру – 1 арк. А1, технологічна схема – 1 арк. А1, апаратурна схема – 1 арк. А1

6. Консультанти розділів проєкту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 5	Шибецький В.Ю., доцент каф. біотехніки та інженерії		

7. Дата видачі завдання _____

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проєкту	Термін виконання етапів проєкту	Примітка
1.	Характеристика біологічного агента	01.04.20-14.04.20	
2.	Технологічна частина	14.04.20-22.04.20	
3.	Методи отримання промислових продуцентів	22.04.20-29.04.20	
4.	Біохімічні основи виробництва	22.04.20-29.04.20	
5.	Складання апаратурної схеми	29.04.20-06.05.20	
6.	Розрахунок обладнання для проведення технологічного процесу	27.04.20-11.05.20	
7.	Оформлення пояснювальної записки	13.05.20-8.06.20	

Студент
Керівник

Катерина ВАСИЛЕНКО
Тетяна БОГДАН

**Пояснювальна записка
до дипломного проєкту
на тему: «Технологія виробництва фосфобактерину. Дільниця
сушіння продукту»**

Київ – 2020 року

РЕФЕРАТ

Дипломний проєкт: 75 с., 9 рис., 5 табл., 52 посилання.

Робота присвячена вдосконаленню технології виробництва препарату фосфатмобілізуєчих бактерій фосфобактерину, а саме підвищенню виходу цільового продукту та ефективності використання розпилювальної дискової сушарки.

У якості продуцента фосфобактерину обрано штам *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49, отриманий у результаті штучного відбору.

В проєкті модифіковано поживне середовище на основі меляси, кукурудзяного борошна та В-комплексу (відходу виробництва вітаміну Д), яке дозволяє збільшити вихід цільового на 43% у порівнянні з виходом спорової маси продуценту, вирощеного на класичному середовищі.

Для підвищення ефективності використання розпилювальної сушарки, запропоновано після центрифугування промивати осад, що дозволить зменшити ризик засмічення розпилювального диску. Наведено технологічний та конструктивний розрахунки розпилювальної дискової сушарки продуктивністю 35,7 кг/год висушеного матеріалу. В роботі обґрунтовані та подані технологічна та апаратурна схеми виробництва.

ФОСФОБАКТЕРИН, *BACILLUS MEGATERIUM SUBSP. PHOSPHATICUM* 49, ФОСФАТМОБІЛІЗУЮЧІ БАКТЕРІЇ, ДОБРИВА, ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ, ШТУЧНИЙ ДОБІР, СУШІННЯ, РОЗПИЛЮВАЛЬНА ДИСКОВА СУШАРКА.

ABSTRACT

The graduation project: 75 pages, 9 figures, 5 tables, 52 references.

The work is devoted to the improvement of the technology of production of the preparation of phosphate-mobilizing bacteria phosphobacterin, namely to the increase of the yield of the target product and the efficiency of the spray disk dryer.

As a producer of phosphobacterin selected strain *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49, obtained by artificial selection.

The project modified the nutrient medium based on molasses, corn flour and B-complex (waste of vitamin D production), which allows to increase the yield of the target by 43% compared to the yield of spore mass of the producer grown on a classical medium.

To increase the efficiency of the spray dryer, it is proposed to wash the precipitate after centrifugation, which will reduce the risk of clogging of the spray disk. Technological and constructive calculations of the spray disk dryer with a productivity of 35.7 kg/l of dried material are given. The technological and hardware schemes of production are substantiated and presented in the work.

KEY WORDS: PHOSPHOBACTERIN, *BACILLUS MEGATERIUM SUBSP. PHOSPHATICUM* 49, PHOSPHATMOBILIZING BACTERIA, FERTILIZERS, NUTRIENT MEDIUM, ARTIFICIAL SELECTION, DRYING, SPRAY DISC DRYER.

ЗМІСТ

ВСТУП	10
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО ОБ'ЄКТУ	12
1.1. Основні промислові продуценти	12
1.2. Морфолого-цитологічні ознаки	13
1.3. Культуральні ознаки	14
1.4. Фізіолого-біохімічні ознаки	14
1.5. Поширення в природі.....	15
РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА.....	16
2.1. Характеристика кінцевого продукту	16
2.2. Схема хімічних перетворень	16
2.3. Характеристика компонентного складу біотехнологічного препарату, отриманого в процесі реалізації технології	22
2.4. Механізми впливу цільового продукту на біохімічні процеси	23
РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ.....	25
3.1. Генетична вивченість біологічного об'єкту	25
3.1.1. Наявність генетичних карт продуценту або типового представника групи.....	25
3.1.2. Вивченість механізмів експресії генів, відповідних за синтез цільового продукту, індукторів та репресорів процесу синтезу	27
3.2. Загальні методи створення високопродуктивного промислового продуценту	28

					ДП 6105.00.000 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат				
Розробив	Василенко				ЗМ СТ	Стадія	Аркуш	Аркуші в
Консульт						Д		75
Керівник	Богдан					КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Затвер	ТЗ							

3.2.1.	Використання природного та штучного добору для отримання промислових продуцентів (без використання мутагенів та з використанням мутагенів).....	28
3.3.	Схема отримання продуцента, що використовується в роботі.....	29
РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА		31
4.1.	Характеристика кінцевої продукції виробника.....	31
4.2.	Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві.....	32
4.3.	Опис технологічного процесу	39
4.4.	Матеріальний баланс.....	48
4.5.	Контроль виробництва.....	50
РОЗДІЛ 5. РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ		58
5.1.	Обґрунтування вибраної конструкції. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату.....	58
5.2.	Технологічний, конструктивний та тепловий розрахунки	61
5.2.1.	Матеріальний баланс	61
5.2.2.	Тепловий баланс.....	63
5.2.3.	Конструктивний розрахунок.....	66
5.3.	Вибір загальнозаводського обладнання.....	67
5.3.1.	Фільтри.....	67
5.3.2.	Манометри	67
5.3.3.	Калорифер.....	67
5.3.4.	Термоперетворювачі.....	68
5.3.5.	Вентелятори	68

5.4. Вимоги до охорони праці та навколишнього середовища.....	68
ВИСНОВКИ.....	71
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	Ошибка! Закладка не определена.

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						9
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		

ВСТУП

На сьогодні однією із найбільших проблем аграрного сектору України є виснаження родючості ґрунтів. Причиною цього є низький ступінь засвоєння мінеральних та органічних добрив, що призводить до збільшення внесення їх кількості. Так, фосфорні добрива засвоюються лише на 14%, калійні – на 25-60%, а азотні - на 35-60% в залежності від типу ґрунту [1].

Застосування мікробних препаратів здатне покращити засвоєння мінеральних та органічних добрив та підвищити родючість ґрунтів.

Фосфор - одна з обов'язкових складових частин живої клітини рослин. Даний елемент входить до складу нуклеїнових кислот, які беруть участь в синтезі білка та передачі спадкової інформації. Утворені в результаті комплексів нуклеїнових кислот з білками, нуклеопротеїди, беруть участь в побудові клітинних ядер. Також фосфор присутній в речовинах, які визначають швидкість і напрямок біохімічних процесів в рослинах, - в ферментах, вітамінах, гормонах [2].

Однак в мінеральній формі він мало доступний для рослин. Тому розробка бактеріальних добрив, що допомагають перевести складні сполуки фосфору та органічні фосфати у доступну для рослин форму є актуальним завданням. Одним із найбільш ефективних препаратів, що має здатність перетворювати складні фосфороорганічні сполуки і важкозасвоювані мінеральні фосфати у доступну для рослин форму є фосфобактерин. Це бактеріальне добриво, що містить спори ґрунтових бактерій виду *Bacillus megaterium var. phosphaticum*. При його внесенні в ґрунт засвоєння фосфорних добрив підвищується майже вдвічі. Крім того, бактерії виділяють біологічно активні речовини, що стимулюють ріст рослин, особливо на ранніх етапах їх розвитку. Слід відмітити, що фосфобактерин не замінює органічні та

					ДП 6105.00.000 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат			
Розробив	Василенко				ВСТУП	Стдія	Аркуш
Консульт						Д	75
Керівник	Богдан Т.З.					КПІ ім. Ігоря	
Затвер						Сікорського	

мінеральні фосфатні добрива та не ефективний без них. Він відноситься до ряду препаратів, що стимулюють ріст та розвиток рослин.

Метою дипломного проєкту було запропонувати технологію виробництва препарату фосфатмобілізуєчих бактерій фосфобактерину, яка забезпечує високий вихід продукту та його належну якість.

Для досягнення заданої мети необхідно виконати наступні завдання: обрати високопродуктивний штам-продуцент з вираженими фосфатмобілізуючими властивостями та охарактеризувати його морфологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні ознаки; розглянути методи отримання промислових продуцентів та запропонувати схему отримання обраного штаму; модифікувати поживне середовище для культивування даного препарату; скласти принципову технологічну та апаратурну схему виробництва; розрахувати та спроектувати сушільний апарат, який задовольняє вимогам якості продукту.

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						11
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		

РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО ОБ'ЄКТУ

1.1. Основні промислові продуценти

При аналізі літератури було виявлено що класичним продуцентом, який застосовується при виробництві фосфобактерину є *Bacillus megaterium var. phosphaticum*. Він бере участь в мікробній мінералізації органічного фосфору. При цьому фосфат переходить від органічного до неорганічного стану, в якому він буде використовуватися рослинами. *B. megaterium* може стимулювати ріст рослин завдяки здатності синтезувати рістстимулюючі фактори такі як вітаміни B12, біотин, тіамін, тощо, а також синтезує фунгіцидні та антимікробні речовини [3]. При патентному пошуку було обрано штам *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49, який буде використаний у даному дипломному проекті [4].

За визначником Берджі *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49 відноситься до групи 18 “Грампозитивні палички та кокки, що утворюють ендоспори” (табл.1) [5]:

Таблиця 1.1.1. Систематичне положення продуцента

1	2
Надцарство	<i>Procaryota</i>
Царство	<i>Bacteria</i>
Тип	<i>Firmicutes</i>
Клас	<i>Bacilli</i>
Порядок	<i>Bacillales</i>
Родина	<i>Bacillaceae</i>
Рід	<i>Bacillus</i>
Вид	<i>Bacillus megaterium</i>

					ДП 6105.00.000 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат	РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА		
Розробив	Василенко						
Консульт							
Керівник	Богдан Т.З.						
Затвер							
					Стадія	Аркуш	Аркушів
					Д		75
					КПІ ім. Ігоря Сікорського		

1	2
Підвид	<i>B. megaterium subsp. phosphaticum</i>
Штам	<i>B. megaterium subsp. phosphaticum</i> 49

1.2. Морфолого-цитологічні ознаки

Клітини обраного продуценту мають вигляд прямих паличок з довжиною клітини до 4 мкм і діаметром до 1,5 мкм, із закругленими або "обрубленими" кінцями. Розташовуються поодинокі чи в парах, інколи утворюють ланцюжки (Рис.1.2.1). Даний рід бактерій позитивно зафарбовується за Грамом. Є рухомими завдяки наявності перитрихіальних жгутиків. *B. megaterium* є спороутворюючими бактеріями. За характером спор утворюють ендоспори овальної, сферичної або циліндричної форми. Ці спори є високостійкими до багатьох несприятливих чинників. У клітині утворюється не більше однієї спори [5].

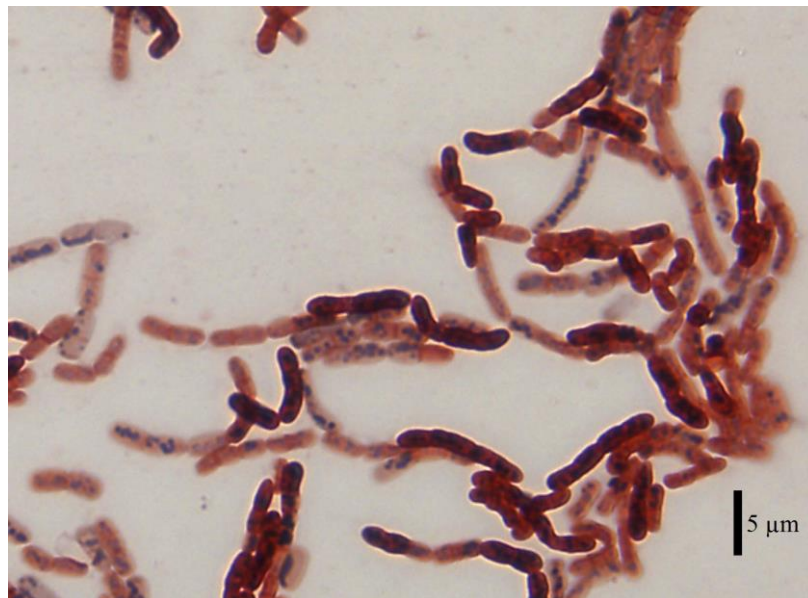


Рисунок 1.2.1. Культура *Bacillus megaterium*.

1.3. Культуральні ознаки

На щільному поживному середовищі виростають округлі колонії з діаметром 1-5 мм (рис. 1.3.1). Колонії білого кольору мають рівний край, а характер поверхні – гладкий і блискучий [6].



Рисунок 1.3.1. Ріст колоній культури *Bacillus megaterium* на щільному поживному середовищі.

1.4. Фізіолого-біохімічні ознаки

B. megaterium росте при температурі від 3 °С до 45 °С, при оптимальній температурі близько 30 °С. Оптимальний рівень рН складає 7,0. Аероби або факультативні анаероби. Хемоорганотрофи. Має метаболізм дихального типу. Каталазопозитивний. В організмі цієї бактерії немає лужних протеаз. Спосіб розмноження – простий поділ. Більшість штамів *B. megaterium* несуть множинні плазмідни, як правило, більше чотирьох. Однією з переваг цього мікроорганізму є широкий спектр зброджування цукрів, які є джерелами вуглеводів для нього (глюкоза, сахароза, арабіноза, ксилоза, маніт тощо). Як джерело азоту у

поживних середовищах для даного мікроорганізму часто використовують кукурудзяний екстракт або кукурудзяне борошно.

Для штамму *B. megaterium subsp. phosphaticum* 49 характерна підвищена здатність до продукування гібберелінів. Мобілізує фосфор ортофосфатів кальцію зі швидкістю 5,1 мг / л.

Добре зберігається в скляних пробірках на скошеному агаризованому середовищі (на МПА з додаванням MnSO_4 - 10 мг / л) при температурі + 4 ° С [7].

Штам схильний до фаголізису і є нестійким до бактеріофагів [8].

B. megaterium виробляє амідазу пеніциліну, що використовується для виробництва пеніциліну. Ця бактерія також виробляє ферменти, що модифікують кортикостероїди, а також різні амінокислоти дегідрогенази та вітаміни [9].

1.5. Поширення в природі

B. megaterium має дуже широкий спектр місць існування у навколишньому середовищі. Окрім того, що це звичайна ґрунтова бактерія та ендofіт, її можна знайти в різних продуктах харчування (включаючи мед, в яких більшість мікроорганізмів не росте) та на

різних поверхнях, включаючи клінічні зразки, шкіру, папір, камінь тощо. Також було виділено від коров'ячого калу та гусені імператорської молі [7].

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						15
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		

РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА

2.1. Характеристика кінцевого продукту

Препарат «Фосфобактерин» відноситься до бактеріальних препаратів фосфатмобілізуючої дії. Продукт представляє собою суміш спорової маси *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* та носія – каоліну у співвідношенні 1:1.

Препарат має здатність перетворювати складні фосфороорганічні сполуки (нуклеїнові кислоти, нуклеопротейди тощо) і важкозасвоювані мінеральні фосфати (пірофосфати, поліфосфати) у доступну для рослин форму. Крім того, бактерії виділяють біологічно активні речовини (тіамін, піридоксин, біотин, пантотенову і нікотинову кислоти, вітамін B₁₂ тощо), стимулює ріст рослин, особливо на ранніх етапах його розвитку.

Фосфобактерин не замінює фосфорні добрива і не діє без них. Відноситься до числа препаратів, що володіє стимулюючим ефектом [10].

2.2. Схема хімічних перетворень

Оскільки метою виробничого культивування даної технології є накопичення біомаси, а не біологічно активних речовин, буде доцільно описати тип метаболізму, що є притаманним обраному продуценту. Для *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49 притаманним є аеробний тип дихання, а сбраджуваним субстратом є глюкоза.

Шляхи розщеплення глюкози складаються з багатьох біохімічних реакцій, кожна з яких каталізується специфічним ферментом.

Катаболізм глюкози починається з гліколізу (рис.2.2.1). При цьому глюкозо-6-фосфат ізомеризується за допомогою глюкозофосфатізомеразі і фосфорилується далі в фруктозо-1,6-дифосфат, який потім розщеплюється на

					ДП 6105.00.000 ПЗ			
Зм.	Арк.	№ докум.	Пі дпис	Дат				
Розробив	Василенко				РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ВИРОБНИЦТВА	Стадія	Аркуш	Аркуші в
Консульт						Д		75
Керівник	Богдан					КПІ ім. Ігоря Сікорського		
Затвер								

3-фосфогліцеріновий альдегід (3-ФГА) і фосфодіоксиацетон. Останній під дією ферменту тріозофосфатізомерази перетворюється в 3-ФГА. Таким чином, з однієї молекули глюкози утворюються дві молекули 3-ФГА. На ці реакції перетворення глюкози в 3-ФГА затрачується енергія двох молекул АТФ. Далі відбувається окислення кожної молекули 3-ФГА до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти (1,3-ФГК).

1,3-ФГК – високоенергетична сполука, що містить макроергічний фосфатний зв'язок, реагує з АДФ (фермент фосфогліцераткіназа), віддаючи високоенергетичну фосфатну групу, в результаті чого синтезується молекула АТФ.

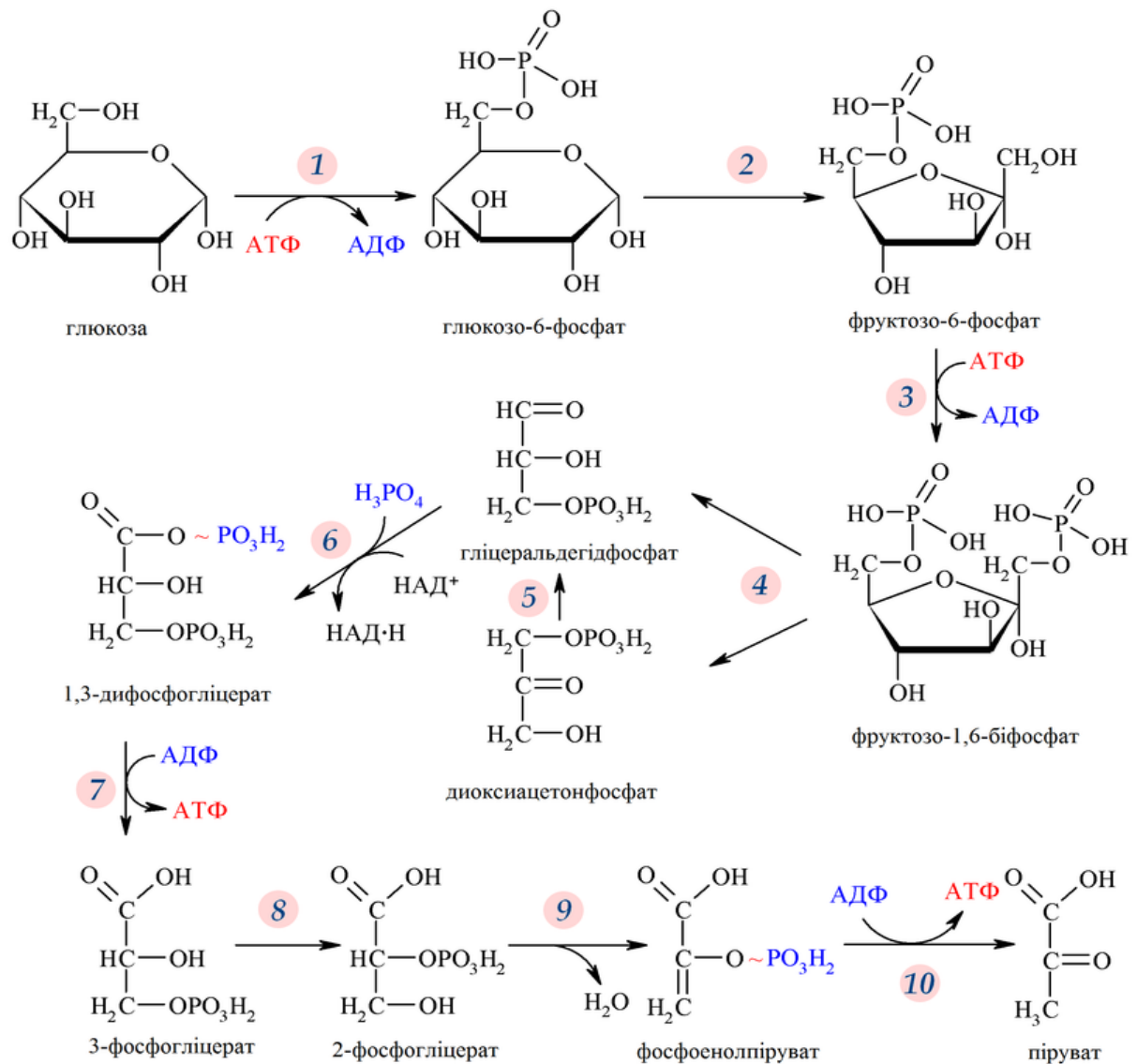


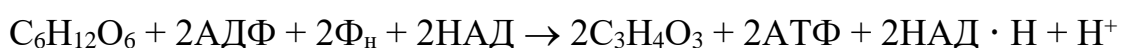
Рисунок 2.2.1. Гліколітичний шлях розщеплення глюкози

1 – гексокіназа, 2 – глюкозо-6-фосфатізомераза, 3 – фосфофруктокіназа, 4 – альдолаза, 5 – тріозофосфатізомераза, 6 – гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа, 7 – фосфогліцераткіназа, 8 – фосфогліцеромутаза, 9 – енолаза, 10 – піруваткіназа.

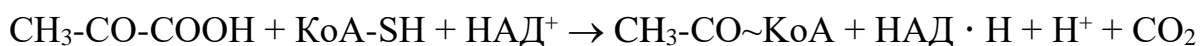
Таким чином, енергія, яка звільнилася при окисленні 3-ФГА, шляхом субстратного фосфорилування стає акумульованою в молекулі АТФ. Утворюється 3-фосфогліцерінова кислота (3-ФГК).

Далі 3-ФГК під дією ферменту фосфогліцеромутази перетворюється в 2-ФГК, з якої в результаті відщеплення води утворюється фосфоенолпіровиноградна кислота (ФЕП). Це також високоенергетичний фосфат, з якого багата енергією фосфатна група переноситься піруваткіназою на АДФ, утворюється молекула АТФ і піровиноградна кислота (ПВК).

Таким чином, при розпаді однієї молекули глюкози утворюється чотири молекули АТФ, в яких акумулюється енергія, що звільнилася. Оскільки на початку процесу на активування глюкози були затрачені дві молекули АТФ, чистий вихід АТФ на одну молекулу глюкози становить дві молекули. Сумарне рівняння гліколізу можна записати в такий спосіб:



Піровиноградна кислота, що утворюється у гліколізі, окислюється за участю коензима А до ацетил-КоА. В даному процесі працюють ферменти піруватдегідрогенази:



Ацетил-КоА є вихідним субстратом циклу трикарбонових кислот (ЦТК), або циклу Кребса (рис 2.2.2.).

У цикл Кребса включається одна молекула ацетил-КоА, яка в реакції з оксалоацетатом, яка каталізується цитратсинтетазою, призводить до утворення лимонної кислоти і вільного коензиму А. Лимонна кислота за допомогою ферменту аконітази перетворюється в *цис*-аконітову та ізолимонну

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						18
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		

кислоти. Ізолимонна кислота через щавелевоянтарну кислоту перетворюється в α -кетоглутарову кислоту, яка піддається подальшому декарбоксилюванню.

В кінцевому підсумку окислення ацетил-КоА в ЦТК призводить до утворення двох молекул CO_2 , однієї молекули АТФ і восьми атомів водню, з яких шість атомів пов'язані в молекулах піридиннуклеотидів і два атома - в молекулах флавопротеїнів.

Таким чином, цикл трикарбонових кислот виконує функцію кінцевого окислення органічних речовин, забезпечує утворення відновлювальних еквівалентів для окисного фосфорилування і біосинтетичні процеси клітини різними попередниками, такими як оксалоацетат, сукцинат, α -кетоглутарат та ін.

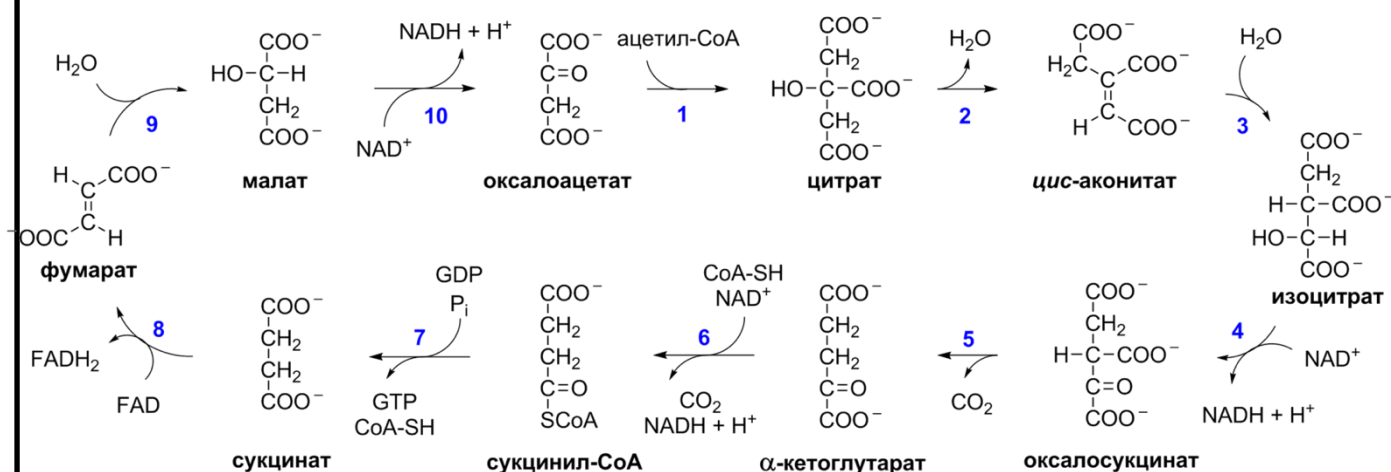


Рисунок 2.2.2. Цикл трикарбонових кислот

1 – цитратсинтаза, 2 – аконітаза, 3 – аконітаза, 4 – ізоцитратдегідрогеназа, 5 – кофактор Mg^{2+} , 6 - α -кетоглутаратдегідрогеназа, 7 – сукциніл-КоА-синтетаза, 8 – сукцинатдегідрогеназа, 9 – фумараза, 10 – малатдегідрогеназа.

$\text{НАД} \cdot \text{H} + \text{H}^+$ і $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$, що утворилися на різних етапах окиснення органічних речовин, надходять в дихальний ланцюг, який у бактерій відбувається в цитоплазматичній мембрані. У дихальному ланцюгу $\text{НАД} \cdot \text{H} + \text{H}^+$ і $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$ знову окислюються до НАД^+ і ФАД , а водень, що відщепився від них, передається не менше ніж через п'ять переносників на заключну

ділянку ланцюга, де з'єднується з молекулярним киснем, утворюючи воду (рис 2.2.3.).

Транспорт водню за участю компонентів дихального ланцюга супроводжується протіканням ряду окисно-відновних реакцій. У деяких з них виділяється достатньо енергії для утворення АТФ, і такий процес носить назву окислювального фосфорилування. У реакціях окисного фосфорилування приймає участь спеціальний фермент АТФ-синтаза, який каталізує перетворення АДФ в АТФ.

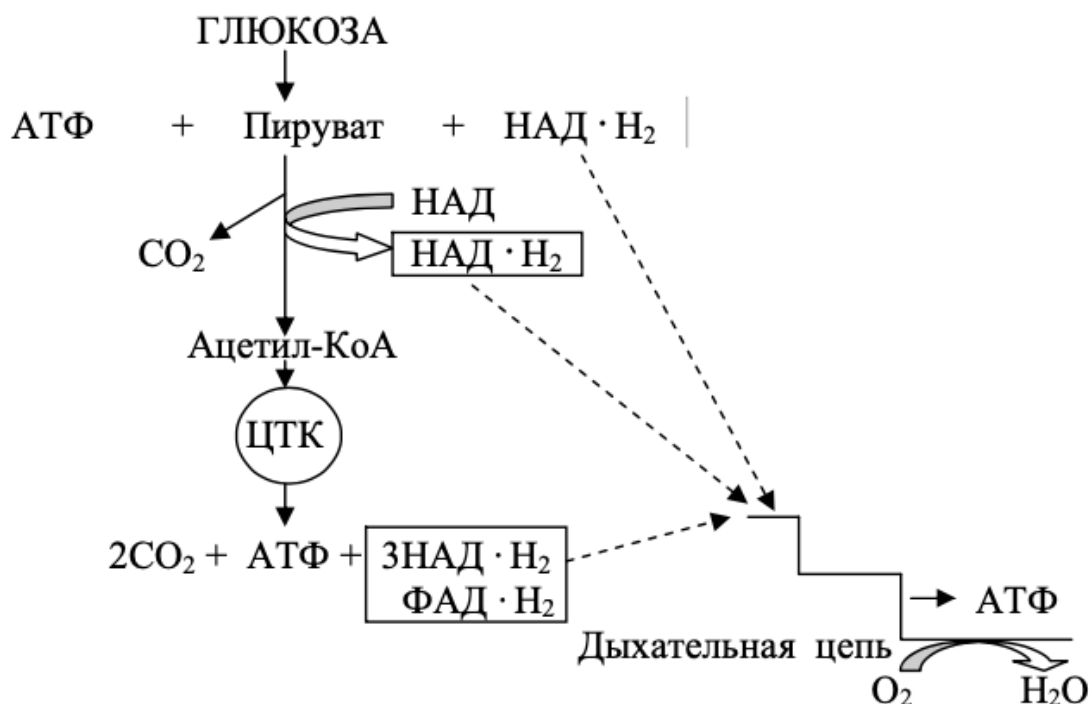


Рисунок 2.2.3. Схема аеробного дихання.

Дихальний ланцюг побудований таким чином, що одні його компоненти переносять тільки атоми водню, а інші - тільки електрони. Причому переносники атомів водню і переносники електронів послідовно чергуються в дихальному ланцюгу. Флавопротеїни і хінони здійснюють перенесення атомів водню, а FeS-білки і цитохроми - електронів.

У *B. megaterium* дихальний ланцюг містить чотири комплекси:

- комплекс 1 - НАД·Н + Н⁺ -дегідрогеназа; в нього входять ФМН і FeS-білки; НАД·Н + Н⁺ -дегідрогеназа переносить водень від НАД·Н + Н⁺ до коферменту Q;

- комплекс 2 - сукцинатдегідрогеназа, що містить ФАД. Вона віддає водень в дихальний ланцюг на рівні коферменту Q;
- комплекс 3 - цитохром b_{556} , який бере електрони від коферменту Q і менахінону і передає їх на цитохром o;
- комплекс 4 -цитохромоксидаза, що здійснює перенесення електронів на молекулярний кисень.

Зв'язування протонів відбувається на внутрішній стороні мембрани, а їх вивільнення - на зовнішній. Так як цитоплазматична мембрана бактерій непроникна для іонів, в тому числі і для H^+ , і OH^- , то створюється трансмембранний електрохімічний, або протонний градієнт між зовнішньою і внутрішньою її сторонами. Протони можуть надходити через мембрану назад тільки в певних місцях. У деяких з них знаходяться специфічні білки - АТФ-синтази. АТФ-синтаза - багатокомпонентний білковий комплекс, що складається з гідрофільної головки(5 субодиниць, представлених в різних кількісних відношеннях), поверненої до цитоплазми, ніжки і основи (3 субодиниці), занурених в мембрану. В процесі перенесення протонів через мембрану АТФ-синтаза каталізує приєднання фосфату до АДФ з відщепленням води, в результаті утворюється АТФ. Однак, в даний час поки в деталях не ясно, яким чином енергія трансмембранного електрохімічного градієнта використовується в реакціях фосфорилування.

У бактерій при окисненні однієї молекули $НАД \cdot H + H^+$ утворюються дві молекули АТФ, а при окисненні молекули $ФАД \cdot H_2$ - одна молекула АТФ.

Таким чином, при аеробному диханні у бактерій, коли катаболізм глюкози відбувається гліколітичним шляхом, утворюється 26 молекул АТФ:

- дві молекули АТФ синтезуються під час гліколізу;
- дві молекули АТФ синтезуються в двох оборотах циклу Кребса;
- 10 молекул $НАД \cdot H + H^+$ призводять до синтезу 20 молекул АТФ;
- дві молекули $ФАД \cdot H_2$ призводять до синтезу двох молекул АТФ [11].

2.3. Характеристика компонентного складу біотехнологічного препарату, отриманого в процесі реалізації технології

Препарат «Фосфобактерин» являє собою суміш спорової маси *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49 та порошкового каоліну у співвідношенні 1:1. В 1 г готового препарату повинно міститися $8 \cdot 10^9$ КУО заданого продуценту [10]. Характеристика кінцевої продукції виробництва описана в табл. 2.3.1.

Таблиця 2.3.1. Характеристика кінцевої продукції виробництва

Показник	Характеристика
1	2
Склад	<i>Bacillus megaterium subsp. phosphaticum</i> 49 $8 \cdot 10^9$ КУО/г Допоміжні речовини: Каолін порошковий (У співвідношенні: 1:1)
Життєздатність клітин	$\geq 90-95\%$
Зовнішній вигляд	Однорідний порошок світло-сірого або жовтого кольору
Масова частка вологи	2-3%
Мікробіологічна чистота	Препарат не містить сторонньої мікрофлори

Інші біологічно активні речовини у препараті відсутні.

2.4. Механізми впливу цільового продукту на біохімічні процеси

Основні механізми солюбілізації фосфору, що використовуються ґрунтовими мікроорганізмами, включають:

- вивільнення комплексних або розчинених мінеральних сполук, наприклад, аніонів органічних кислот, сидерофорів, протонів, гідроксильних іонів, CO_2 ;
- вивільнення позаклітинних ферментів (біохімічна мінералізація P);
- вивільнення фосфору при деградації субстрату (біологічна мінералізація P).

Мікроорганізми відіграють важливу роль у трьох основних компонентах ґрунтового циклу фосфору (тобто розчинення – осадження, сорбція – десорбція та мінералізація – іммобілізація). Крім того, ці мікроорганізми в присутності лабільного карбону служать джерелом для фосфору, швидко іммобілізуючи його навіть у ґрунтах з низьким його рівнем; тому фосфатмобілізуючі мікроорганізми стають джерелом фосфору рослин після вивільнення їх клітин. Вивільнення фосфору, іммобілізованого фосфатмобілізуючими мікроорганізмами, відбувається насамперед, коли клітини гинуть через зміни умов навколишнього середовища. Зміни навколишнього середовища, такі як висушування-зволоження або заморожування-відтавання, можуть призвести до так званих пошкоджень, раптового збільшення наявного фосфору у розчині через незвично високу частку лізису мікробних клітин.

Солюбілізацію органічного фосфору називають також мінералізацією органічного фосфору. Мінералізація органічного ґрунтового фосфору відіграє важливу роль у його кругообігу. Органічний фосфор може становити 4–90% від загальної кількості ґрунтів фосфору [12]. Такий фосфор може виділятися з органічних сполук у ґрунті ферментами:

1. Неспецифічні кислотні фосфатази, які дефосфорилують фосфоефірні або фосфоангідридні зв'язки органічної речовини. Серед різноманітних класів ферментів фосфатази, що вивільняються фосфатмобілізуючими мікроорганізмами, найбільш поширеними та найкраще вивченими є

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		23

фосфомоноестерази (часто їх називають також фосфатазами). Залежно від їх оптимізації рН ці ферменти поділяються на кислотні та лужні фосфомоноестерази, і обидва вони можуть продукуватися фосфатмобілізучими мікроорганізмами залежно від зовнішніх умов. Зазвичай кислотні фосфатази переважають у кислих ґрунтах, тоді як лужні фосфатази частіше бувають у нейтральних та лужних ґрунтах. Хоча коріння рослин можуть утворювати кислотні фосфатази, вони рідко утворюють великі кількості лужних фосфатаз, що дозволяє припустити, що це потенційна ніша для фосфатмобілізуючих мікроорганізмів [13]. Також важко розмежовувати фосфатази, що продукуються коренями та фосфатмобілізуючими мікроорганізмами, але деякі дані свідчать про те, що фосфатази мікробного походження мають більшу спорідненість до сполук органічного ґрунтового фосфору, ніж ті, що отримуються з коренів рослин [14].

2. Фітази, що викликають вивільнення фосфору від деградації фітату. У своїй основній формі фітат є основним джерелом інозиту і основним джерелом фосфору у насінні рослин та пилку, і є основним компонентом органічного фосфору у ґрунті. Хоча здатність рослин отримувати фосфор безпосередньо з фітату дуже обмежена, проте ріст та фосфорне живлення рослини різунки Таля, яка отримувала фосфор з фітату, було значно краще, коли вона була генетично трансформована геном фітази (*phyA*), отриманим з *B.megaterium* [15]. Це призвело до збільшення фосфорного живлення настільки, що приріст та вміст фосфору в рослині були еквівалентні контрольним рослинам, що отримували неорганічний фосфор. Отже, мікроорганізми насправді є ключовим рушієм у регулюванні мінералізації фітату в ґрунті та їх присутність в межах ризосфери може компенсувати нездатність рослин в іншому випадку здобувати фосфор безпосередньо з фітату [16].

3. Фосфонатази та ліази C–P, які розщеплюють C–P зв'язок органофосфонатів [17].

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		24

РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПРОДУЦЕНТІВ

3.1. Генетична вивченість біологічного об'єкту

3.1.1. Наявність генетичних карт продуценту або типового представника групи

B. megaterium доволі добре генетично вивчений і активно піддається генетичному маніпулюванню [18]. Генетична карта *B. megaterium*: безплазмідного штаму *DSM319* та *QM B1551*, який містить у собі сім плазмід продемонстровано на рис. 3.1.1.1.

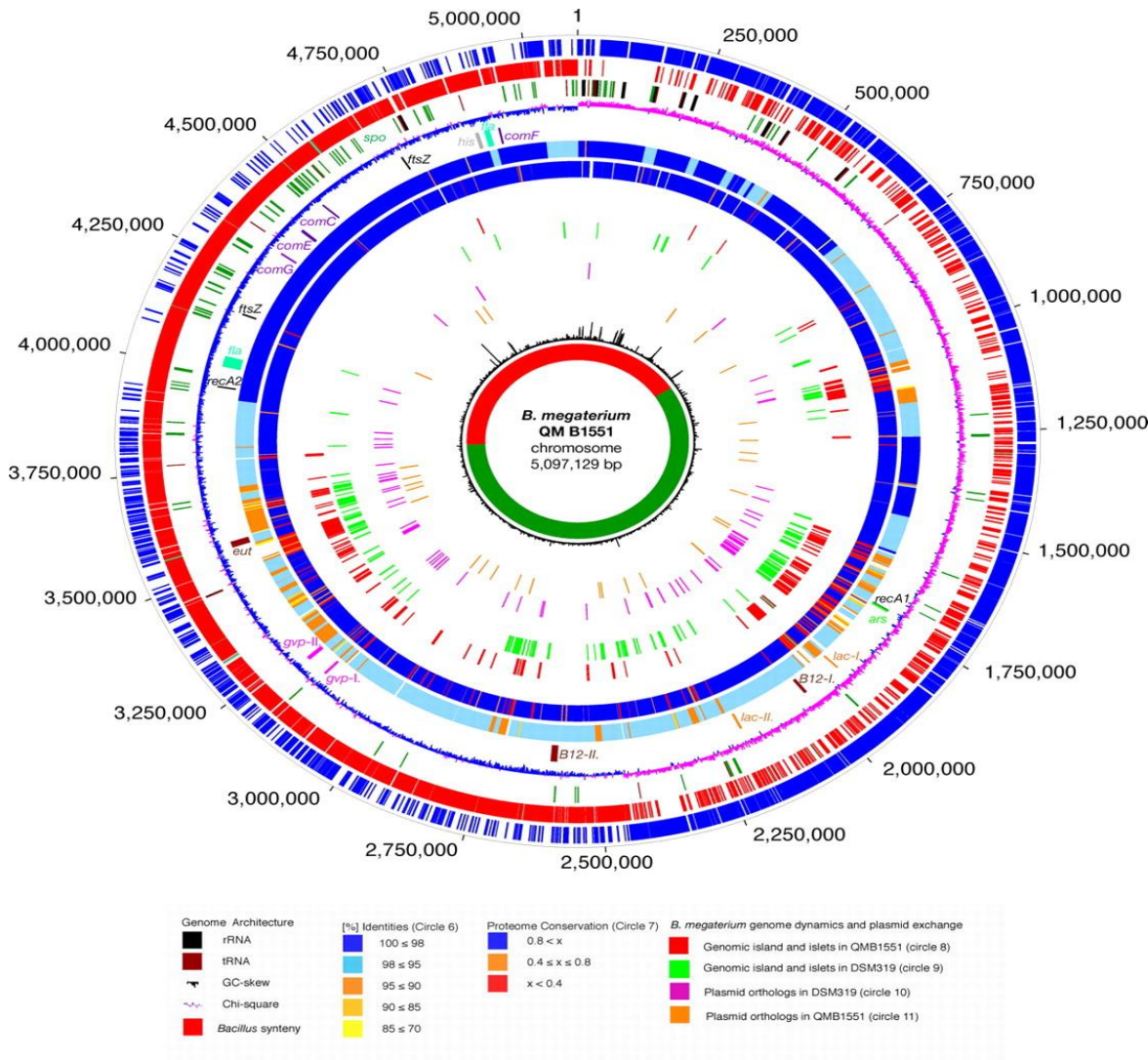


Рисунок 3.1.1.1. Генетична карта *B. megaterium*

					ДП 6105.00.000 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат	РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ПРОМИСЛОВИХ		
Розробив	Василенко						
Консульт							
Керівник	Богдан						
Замов							
					Стадія	Аркуш	Аркуш в
					Д		75
					КПІ ім. Ігоря Сікорського		

Кола (пронумеровані від 1 до 13, від зовнішнього до внутрішнього кола): кола 1 і 2, передбачувані відкриті рамки зчитування, закодовані на *QM B1551* позитивно (коло 1, синій) і негативно (коло 2, червоний) спрямовані; коло 3, переважаючі гени в консервативній області *Bacillus*, показуючі тРНК (коричневий), кластери рРНК (чорні), споруляцію та проростання (темно-зелений); коло 4, GC перекосяк; коло 5, хромосомні області, що представляють інтерес, включаючи оперони I і II для газових везикул (*gvp*; пурпуровий), оперони вітаміну B12 I та II (B12; коричневий), джгутикові оперони (*fla*; aqua), гени *RecA* (*rec*; чорний), арсенат оперони стійкості (*ars*; зелений), гени β -галактозидази (*lac*; помаранчевий), утилізація етаноламіну (*eut*; коричневий), біосинтез гістидину (*his*; сірий) та оперони компетентності CEFG (*com*; фіолетовий); кола 6 і 7, порівняльний аналіз ідентичності хромосоми *QM B1551* (коло 6) та протеоми (коло 7) до *DSM319*; кола 8 і 9, не випадковий розподіл геномних островів та острівців у *QM B1551* (коло 8) та *DSM319* (коло 9); кола 10 і 11, хромосомні гени з *QM B1551*, що передаються плазмідами, ортологи *QM B1551* (коло 10) та *DSM319* (коло 11); коло 12, чі-квадратні значення для відображення відхилень GC; коло 13, область збереженої синтени (червона), сусідня з *ori*, ідентифікована порівняльним вивченням архітектур геному у споріднених *Bacilli*, а решта геному забарвлена в зелений колір.

Хромосоми штамів *B. megaterium QM B1551* і *DSM319* є кільцевими молекулами 5,097,129 п.н. і 5,097,447 п.н. відповідно, з середнім вмістом G + C 38,2%. Крім того, штам *QM B1551* містить сім нативних плазмід, від *pBM100* до *pBM700*, з розмірами від 5,4 т.п.н. до більше 164 т.п.н., в той час як штам *DSM319* є природним плазмідним ізолятом. Плазміди мають значно нижчий вміст G + C, ніж хромосоми (від 33,0 до 36,5 проти 38,2%). Хромосома штаму *QM B1551* містить 5284 гена, а хромосома штаму *DSM319* містить 5272 гена. Дві хромосоми демонструють високий рівень збереження геному, маючи ідентичність нуклеотидної послідовності більше 95% на 83,3% довжини двох хромосом. Геноми в основному колінеарні, з єдиною перебудовою, що

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ док.ум.	Підпис	Дат		26

перевищує три гена: блок з 17 генів в QM B1551 інвертований і зміщений на 1,7 МБР щодо DSM319 (гени BMQ_1765 до BMQ_1781 гомологічні генам від BMD_3632 до BMD_3616). Переставлена область не представляється єдиною функціональною одиницею: гени знаходяться на обох ланцюгах і беруть участь у декількох різних біологічних процесах. Більшість генетичних відмінностей між двома геномами обумовлені вставками або делеціями поодиноких генів або малих груп генів у розсіяних та незалежних геномних місцях по обох хромосомах. Порівняно з функцією генів, загальних для обох штамів, гени, специфічні для штаму, збільшуються у функціях, що впливають на взаємодію з навколишнім середовищем: клітинну оболонку, транспорт, передачу сигналу та регуляцію генів. Навпаки, порівняно менше генів, специфічних для штаму, пов'язано з основними клітинними процесами, такими як амінокислотний, нуклеотидний або кофакторний біосинтез, метаболізм жирних кислот, синтез або деградація білків або транскрипція. Специфічні для ізоляту гени також частіше анотуються як збережені гіпотетичні гени або гени, що кодують ферменти невідомої специфічності [19].

3.1.2. Вивченість механізмів експресії генів, відповідних за синтез цільового продукту, індукторів та репресорів процесу синтезу

Споруляція *Bacillus megaterium* складається із серії послідовних біохімічних та морфологічних кроків, які призводять до перетворення живої бактерії у сплячу форму - спору. Цей процес диференціації частково регулюється на рівні транскрипції [20].

Основним регулятором споруляції є консервативний ген Spo0A. Спочатку Spo0A активується шляхом фосфорилування його регуляторного домену через багатокомпонентний фосфорелейний ланцюг, коли надходження поживних речовини до мікроорганізму обмежене. Фосфорильований Spo0A (Spo0A-P) може потім розпізнавати і зв'язуватися з певною послідовністю ДНК, з назвою "0A-box", в результаті чого транскрипція генів активується або репресується. Коли Spo0A-P накопичився до певного рівня, споруляція

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		27

ініціюється синтезом або активацією каскаду r факторів у потрібний час та у потрібному місці.

У *Bacillus spp.* спори багаті на піридин-2,6-дикарбонову кислоту (ДПА), яка допомагає зменшити вміст основної води та робить спори стійкими до різних екологічних чинників. ДПА синтезується за допомогою ДПА-синтази, що є продуктом оперону *spoVF*, що складається з *spoVFA* та *spoVFB*. Інактивація або *spoVFA*, або *spoVFB* призводить до дефіцитного синтезу ДПА. Подальші дослідження показали, що мутація *spoVF* призводить до нестабільності спори і підвищує її чутливість до вологи, спеки та пошкодження ДНК через кортекс-літичний фермент *SleB*, що активується гідратованим ядром [21].

3.2. Загальні методи створення високопродуктивного промислового продуценту

3.2.1. Використання природного та штучного добору для отримання промислових продуцентів (без використання мутагенів та з використанням мутагенів)

Найчастіше методи селекції у якості методу отримання промислового штаму використовуються на виробництвах, де необхідне накопичення спорової маси продуценту. Саме цим методом відбирають представників *B. megaterium* для виробництва фосфатмобілізуєчих препаратів. У даній роботі штам-продуцент був отриманий методом штучного відбору без використання додаткових мутагенів. Спочатку були відібрані проби чорнозему. Проби серійно розводилися у воді, після чого проводилося культивування на щільному середовищі із нерозчинними фосфатами. Після культивування навколо колоній, що володіли фосфатмобілізуючою активністю утворювалися прозорі зони. Колонії з найбільшими радіусом прозорої зони відбирали і проводили повторне культивування на рідкому поживному середовищі із нерозчинними фосфатами. Після інокуляції проводився скринінг на концентрацію нерозчинних фосфатів. Колба, концентрація фосфатів у якій

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		28

була найменшою, відбиралася для подальшої роботи. Далі відбувалася очистка культури шляхом реінокуляції. Фінальним етапом було проведення морфологічних, культуральних та біохімічних тестів виділеного штаму [22].

3.3. Схема отримання продуцента, що використовується в роботі

На рис. 3.3.1. представлена схема отримання штаму-продуценту, що використовується у даній роботі.

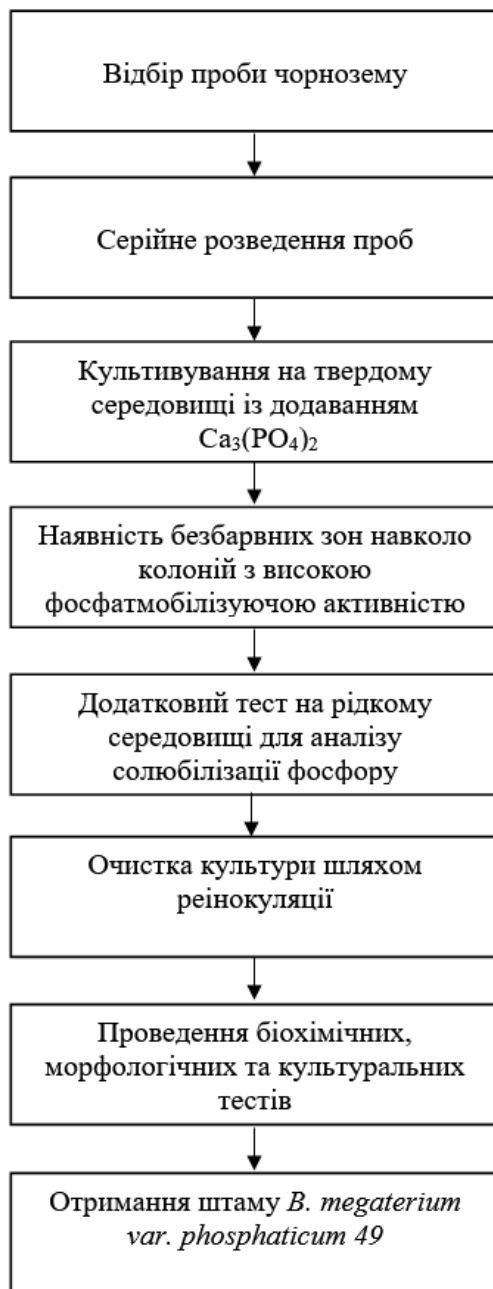


Рисунок 3.3.1. Схема отримання штаму-продуценту *B.megaterium subsp. phosphaticum 49*

Проби розводилися серійно 5 разів за наступною схемою: у першу мірну аналітичну колбу об'ємом 50 мл відміряли 5 г ґрунту, доводили дистильованою водою до мітки і ретельно перемішували. У наступну колбу відбирали 1 мл з першої, доводили до мітки дистильованою водою і також ретельно перемішували. Наступні розведення проходили за аналогічною схемою. Усі колби були однакового об'єму – 50 мл.

Далі проводилося культивування проб на щільному поживному середовищі із наступним складом, г/л: сахароза – 10,0; NH_4NO_3 - 0,4; K_2HPO_4 - 1,8; KH_2PO_4 - 0,3; MgSO_4 - 0,2; CaCl_2 - 0,03 мг; FeSO_4 - 0,07 мг; дріжджовий екстракт - 0,1; рН - 6,8-7,0. Культивування тривало 48 год. Колонії з прозорими зонами навколо володіли фосфатмоболізуючими властивостями.

Додатковий тест для перевірки отриманих колоній на переведення нерозчинних фосфатів у розчинну форму проводився на середовищі із наступним складом: сахароза – 10 г/л; K_2HPO_4 - 0,16 г/л; KH_2PO_4 - 0,04 г/л; NaNO_3 - 0,4%; дріжджовий екстракт - 0,02 г/л; MgSO_4 - 0,02%; рН - 7-7,5. Культивування тривало 48 год.

Після культивування вимірювалася концентрація нерозчинних фосфатів. Колба, у якій концентрація нерозчинних фосфатів була найменшою відбиралася на подальшу реінокуляцію з метою очистки культури.

Після реінокуляції проводяться морфологічні, культуральні та біохімічні тести отриманого мікроорганізму. Після тестів за визначником Берджі визначається виділений мікроорганізм [22].

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						30
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		

РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

4.1. Характеристика кінцевої продукції виробника

Назва продукції: «Фосфобактерин»

Характеристика: Суміш каоліну та висушеної спорової маси *B. megaterium subsp. phosphaticum* 49 у співвідношенні 1:1. Залишкова волога готового продукту складає 2-3%. Препарат відповідає вимогам мікробіологічної чистоти та не містить сторонньої мікрофлори.

Категорія та номер діючого нормативно-технічного документу на продукцію: ТУ У 20.1 – XXXXXXXXX – 001 : 2020.

Призначення продукції та можливі галузі використання: бактеріальне добриво для рослин, що допомагає перевести складні фосфорні сполуки та органічні фосфати у доступну для рослин форму. Також однією з можливих галузей використання є підвищення продуктивності ставків, де розводять риб [23].

Зовнішній вигляд та фізико-хімічні характеристики продукту: однорідний порошок світло-сірого чи жовтуватого кольору.

Нормативні вимоги до упаковки, маркування, транспортування, зберігання та терміну придатності: фасовка у поліетиленові водонепроникні пакети по 200, 400 та 1000 г, термін придатності 12 місяці при температурі 5-15 °С.

					ДП 6105.00.000 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат	РОЗДІЛ 4. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА		
Розробив	Василенко						
Консульт							
Керівник	Бордан						
Затвер							
					Стадія	Аркуш	Аркушів
					Д		75
					КПІ ім. Ігоря Сікорського		

4.2. Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві

Таблиця 4.2.1 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Найменування	Категорія і номер НТД, згідно з якою перевіряються показники якості	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
1	2	3	4
1. Основна сировина			
1.1. Вода питна	ДСТУ 7525:2014. Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості [24].	<p>Число бактерій в 1 см³ води, що досліджують за 37 °С КУО/см³</p> <p>Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм³ води, що досліджується, КУО/дм³</p> <p>Число термостабільних кишкових паличок у 100 см³ води, що досліджується, КУО/100 см³</p> <p>Число патогенних мікроорганізмів в 1 дм³ води, що досліджують, КУО/дм³</p> <p>Число коліфагів в 1 дм³ води, що досліджують, БУО/ дм³</p> <p>Спори сульфіто-редуквальних клостридій, наявність/20 см³</p>	<p>100</p> <p>3</p> <p>Відсутність</p> <p>Відсутність</p> <p>Відсутність</p> <p>Відсутність</p>

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
1.2. Каолін порошок	ГОСТ 19607-74. Каолин обогащенный для химической промышленности. Технические условия [25].	Масова доля окису алюмінію, %, не більше Масова доля окису заліза, %, не більше Масова доля двоокису титану, %, не більше Залишок на ситці № 0056, %, не більше Масова доля вологи, %, не більше	35 2 1 2,0 20
1.3. Крейда	ГОСТ 17498-72. Мел. Виды, марки и основные технические требования [26].	Вміст CaCO_3 + MgCO_3 в перерахунку на CaCO_3 , %, не менше	98
1.4. Кукурудзяне борошно	ГОСТ 14176-69. Мука кукурузная. Технические условия [27].	Зольність, %, не більше Вологість, %, не більше Колір	0,9 15 Білий або жовтий
1.5. Меляса бурякова	ДСТУ 3696-98. Меляса бурякова. Технічні умови [28].	Зовнішній вигляд Колір Смак Розчинність у воді	Густа в'язка непрозора рідина Від коричневого до темно-бурого Солодкий з гіркуватим присмаком Повна

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
		Масова частка сухих речовин, %, не менше	75
		Масова частка сахарози, %, не менше	43
		Масова частка суми цукрів, що зброджуються, %, не менше	44
		Величина рН	6,5-8,5
		Загальна кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, КУО в 1 г, не більше	$1 \cdot 10^5$
1.6. Калій фосфат двохзаміщений	ГОСТ 2493-75. Калій фосфорнокислий двузамещенный [29].	Масова доля калія фосфату двохзаміщеного, %, не менше	99
		Масова доля нерозчинних речовин у воді, %, не більше	0,005
		Масова доля азоту із нітритів, нітратів тощо, %, не більше	0,001
		Масова доля сульфатів, %, не більше	0,005
		Масова доля тяжких металів, %, не більше	0,0005
2. Допоміжна сировина			

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
2.1. Вода питна	ДСТУ 7525:2014. Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості [24].	Число бактерій в 1 см ³ води, що досліджують за 37 °С КУО/см ³	100
		Число бактерій групи кишкових паличок в 1 дм ³ води, що досліджується, КУО/дм ³	3
		Число термостабільних кишкових паличок у 100 см ³ води, що досліджується, КУО/100 см ³	Відсутність
		Число патогенних мікроорганізмів в 1 дм ³ води, що досліджують, КУО/дм ³	Відсутність
		Число коліфагів в 1 дм ³ води, що досліджують, БУО/ дм ³	Відсутність
2.2. Хлорне вапно	ГОСТ 1692-85. Известь хлорная. Технические условия (с Изменениями N 1, 2) [30].	Зовнішній вигляд	Порошок білого кольору
		Масова доля активного хлора, %, не менше	35
		Коефіцієнт термостабільності, не менше	0,75

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
2.3. Гідроксид натрію	ГОСТ Р 55064-2012. Натр едкий технический. Технические условия [31].	<p>Зовнішній вигляд</p> <p>Масова частка гідроксиду натрію, %, не менше</p> <p>Масова частка карбонату натрію, %, не більше</p> <p>Масова частка хлорида натрію, %, не більше</p> <p>Масова частка заліза, %, не більше</p> <p>Масова доля сульфата натрію, %, не більше</p>	<p>Плавлена маса білого кольору</p> <p>94</p> <p>1</p> <p>3,5</p> <p>0,03</p> <p>0,4</p>
2.4. Спирт етиловий технічний	ГОСТ Р 55878-2013. Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия [32].	<p>Зовнішній вигляд</p> <p>Запах</p> <p>Масова частка етилового спирту</p> <p>Проба на чистоту</p> <p>Проба на окиснення при 20 °С, хв, не менше</p> <p>Масова</p>	<p>Безбарвна прозора рідина, що не містить механічних домішок</p> <p>Характерний запах ректифікованого спирта без запаху сторонніх речовин</p> <p>96,2</p> <p>Повинен витримувати випробування</p> <p>15</p>

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
		концентрація оцтового альдегіду в перерахунку на безводний спирт, мг/дм ³ , не більше	4
		Масова концентрація сивушного масла в перерахунку на безводний спирт, мг/дм ³ , не більше	4
		Масова концентрація кислот в перерахунку на оцтову кислоту в безводному спирті, мг/дм ³ , не більше	10
		Масова концентрація складних ефірів в перерахунку на безводний спирт, мг/дм ³ , не більше	25
		Об'ємна частка метилового спирту в перерахунку на безводний спирт, %, не більше	0,03
		Проба на форфурол	Відсутність
		Масова концентрація сухого залишку в перерахунку на безводний спирт, мг/дм ³ , не більше	2
3. Матеріали			

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
3.1. Пакети поліетиле-нові водо-непроникні	ГОСТ 17811-78. Мешки полиэтиленовые для химической продукции. Технические условия [33].	Товщина плівки, мм	0, 150±0,030
3.2. Етикетки	ТУ 9570-001-13866117-2009. Этикетки самоклеящиеся. Технические условия [34].	Тип етикетувального матеріалу Щільність, г/м ² Товщина, мкм Тип клею	Папір білий некрейдований 55-75 50-80 Постійної дії
3.3. Скотч	ГОСТ 20477-86. Лента полиэтиленовая с липким слоем. Технические условия [35].	Зовнішній вигляд Ширина стрічки, мм Товщина клейового шару, мм Довжина стрічки у рулоні, м Липкість, с, не менше	Стрічка не повинна мати тріщин, складок, розривів, отворів, пропусків клейового шару і сторонніх включень в клейовому шарі 50 0,030-0,060 70 650
3.4. Распиратор ШБ-1 «Лепесток»	ГОСТ 12.4.028-76 Система стандартов безопасности труда. Респираторы ШБ-1 "Лепесток". Технические услов [36].	Діаметр частинок аерозолю що не проходять крізь пори респиратора, мкм, не менше	5

Продовження таблиці 4.2.1

1	2	3	4
3.5. Рукавички гумові	ГОСТ 20010-93. Перчатки резиновые технические. Технические условия [37].	Товщина рукавиці, мм	0,2-0,4 мм
3.6. Коробки картонні	ГОСТ 12301-2006. Коробки из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия [38].	Тип коробки	З кришкою, з'єднаною «шарнірно» з корпусом

4.3. Опис технологічного процесу

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1. Підготовка персоналу

Дана стадія включає в себе наступні операції: підвищення кваліфікації та перевірка знань працівників, а також підготовка персоналу до роботи

ДР 1.1.1. Підвищення кваліфікації та контроль знань персоналу

Кожні півроку керівництво організовує курси з підвищення кваліфікації своїх співробітників. Також кожного дня на ранковому зібранні контролюються знання персоналу з біобезпеки.

ДР 1.1.2. Підготовка персоналу до роботи

Кожного дня перевіряються знання персоналу з біобезпеки, надається спеціальний для роботи одяг, захисні маски, рукавички, а також руки персоналу обробляється дезінфікуючим засобом.

ДР 1.2. Підготовка миючих дезінфікуючих засобів

ДР 1.2.1. Приготування розчину миючого засобу

Розчин миючого засобу «Сульфенол» готують разом із водою питною у реакторі-змішувачі. Концентрацію готового розчину повинна складати 30 %.

ДР 1.2.2. Приготування 6% розчину перекису водню

Розчин перекису водню готують із води питної та перекису водню 50% у реакторі- змішувачі. Концентрація готового розчину повинна складати 6%.

ДР 1.2.3. Приготування 70% розчину етанолу

Розчин етилового спирту готують із води питної і спирту етилового 96% у реакторі-змішувачі. Концентрація готового розчину повинна складати 70%.

ДР 1.2.4. Приготування 1% розчину лугу

Розчин лугу готують із твердого натрій гідроксиду та води питної у реакторі-змішувачі. Концентрація готового розчину повинна складати 1%.

ДР 1.2.5. Приготування 10% розчину хлорного вапна

Розчин хлорного вапна готують із сухого хлорного вапна та води питної у реакторі-змішувачі. Концентрація готового розчину повинна складати 10%.

ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.3.1. Щоденне прибирання

Перед початком роботи проходить мийка та обробка поверхонь миючими та дезінфікуючими засобами. При цьому використовують розчин миючого засобу, розчин перекису водню та розчин етилового спирту.

ДР 1.3.1. Генеральне прибирання

Проходить раз в тиждень. Під час даної операції відбувається мийка підлог на всьому підприємстві, протирання пилу, обробка та дезінфекція поверхонь. Усі поверхні обробляють 6% розчином перекису водню, залишають на 30-40 хв, потім надлишок витирають. Після дезінфекції розчинами, персонал звільняє помиті приміщення та вони опромінюються бактерицидними лампами.

ДР 2. Підготовка насиченої водяної пари

ДР 2.1. Підготовка насиченої водяної пари для стерилізації обладнання та нагріву

До топкової камери парового котла подається паливо, де відбувається його згорання. Після цього, до котла подається водопровідна питна вода. Вона спочатку нагрівається, а потім перетворюється у насичену водяну пару із параметрами $T = 135\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 0,3\text{ МПа}$ [39].

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		40

ДР 2.2. Підготовка насиченої водяної пари для стерилізації поживного середовища

До топкової камери парового котла подається паливо, де відбувається його згорання. Після цього, до котла подається водопровідна питна вода. Вона спочатку нагрівається, а потім перетворюється у насичену водяну пару із параметрами $T = 120\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 0,1\text{ МПа}$ [39].

ДР 3. Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 3.1. Мийка обладнання та комунікацій водою

Миття устаткування проводять впродовж 2 хвилин гарячою чи холодною водою питною.

ДР 3.2. Мийка обладнання та комунікацій розчином лугу

Миття продовжують розчином лугу 1% впродовж 10 хвилин при температурі $40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ДР 3.3. Дезінфекція обладнання хлорним вапном

Проводять дезінфекцію внутрішніх поверхонь обладнання розчином хлорного вапна 10%.

ДР 3.4. Ополіскування обладнання та комунікацій водою

Ополіскування обладнання та комунікацій проводять питною водою.

ДР 3.5. Стерилізація обладнання, посуду та комунікацій

Стерилізація проводиться насиченою водяною парою при температурі $140\text{ }^{\circ}\text{C}$, тиску $0,5\text{ МПа}$ та впродовж 2 годин.

ДР 4. Підготовка повітря

ДР 4.1. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 4.1.1. Забір повітря з атмосфери

Забір повітря з атмосфери здійснюється за допомогою повітрязабірника на висоті 6-20 метрів.

ДР 4.1.2. Попередня очистка повітря від механічних домішок

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		41

Перед подачею повітря на фільтр попередньої очистки, повітря перевіряють на вологість та рівень забруднення повітря біологічними контамінантами задля забезпечення довшої роботи фільтра.

Фільтр попередньої очистки від механічних часток складається з гофрованих, оброблених маслом сіток конструкції Рекка. Кількість гофрованих плетених сіток 12, отвори яких зменшуються у напрямку руху очищеного повітря. Видаляються частинки розміром більше 5 мкм.

ДР 4.1.3. Стабілізація термодинамічних показників повітря

Після вентилятора повітря поступає в кондиціонер, де відбувається охолодження повітря, видалення залишків вологи та крапель масла з фільтрів попередньої очистки. В кондиціонері відбувається стабілізація фізико-хімічних показників повітря. Повітря з кондиціонера виходить під тиском 0.3 МПа.

ДР 4.1.3. Стерилізація повітря

Стерилізація повітря для виробничих приміщень відбувається у фільтрі НЕРА. Цей фільтр призначений для тонкої очистки, тобто стерилізації повітря зі ступеню очистки від мікроорганізмів та їх спор 98%.

ДР 4.2. Підготовка стерильного аераційного повітря

ДР 4.2.1. Забір повітря з атмосфери

Забір повітря з атмосфери здійснюється за допомогою повітрязабірника на висоті 6-20 метрів.

ДР 4.2.2. Попередня очистка повітря від механічних домішок

Перед подачею повітря на фільтр попередньої очистки, повітря перевіряють на вологість та рівень забруднення повітря біологічними контамінантами задля забезпечення довшої роботи фільтра.

Фільтр попередньої очистки від механічних часток складається з гофрованих, оброблених маслом сіток конструкції Рекка. Кількість гофрованих плетених сіток 12, отвори яких зменшуються у напрямку руху очищеного повітря. Видаляються частинки розміром більше 5 мкм.

ДР 4.2.3. Компресування та транспортування повітря

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		42

Після фільтру повітря направляється на турбокомпресор, який забезпечує стискання повітря до тиску 0,3 МПа і при цьому повітря нагрівається до 120 °С на виході. Контролюють тиск за допомогою манометра.

ДР 4.2.4. Стабілізація термодинамічних показників повітря

Повітря направляється до теплообмінника, де відбувається стабілізація основних показників. Після відділення вологи температура повітря на виході з ресивера змінюється, саме тому перед подачею повітря до фільтрів, а потім і до технологічного процесу, здійснюється підігрів повітря до необхідної температури для культивування за допомогою термопари.

ДР 4.2.5. Очищення повітря на головному фільтрі

В електростатичних фільтрах Trion передбачено кілька ступенів фільтрації. Передфільтрація вловлює великі фрагменти забруднень з повітря.

Далі в роботу включається стімер, який вловлює та затримує дрібні фракції забруднень на різно заряджених спеціальних пластинах з алюмінію. Завдяки даному методу ефективність очистки повітря сягає до 90%.

ДР 4.2.6. Очищення повітря на індивідуальному фільтрі

На останньому етапі повітря направляється до ідивідуального фільтру. Індивідуальний фільтр ферментеру для стерилізації (тонкої очистки) аераційного (технологічного) повітря. Продуктивність 60м³/ год Площа поверхні фільтрування 1м². Ефективність очистки після індивідуального фільтру досягає 99,9999% [40].

ДР 5. Підготовка поживного середовища

ДР 5.1. Дозування В-комплексу

За допомогою дозатора вносять необхідну кількість В-комплексу до реактора і перемішується.

ДР 5.2. Стерилізаційна фільтрація В-комплексу

В-комплекс стерилізують за допомогою фільтру з діаметром пор d=0.3 мкм.

ДР 5.3. Дозування та внесення меляси і кукурудзяного борошна

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		43

За допомогою дозатора вносять необхідну кількість меляси і кукурудзяного борошна до реактора і перемішується.

ДР 5.4. Стерилізація меляси і кукурудзяного борошна

Стерилізація меляси та кукурудзяного борошна проходить у реакторі при температурі 110 °С протягом 1-2 хвилин. Малий час стерилізації обумовлюється наявністю редукуючих цукрів у мелясі.

ДР 5.5. Дозування та внесення «сольової подушки»

За допомогою дозатора вносять необхідну кількість крейди та калій фосфату двохзаміщеного до реактора і перемішується.

ДР 5.6. Стерилізація «сольової подушки»

Відбувається у реакторі глухою парою при температурі 120 °С, тиску 0,1 МПа та впродовж 30 хв.

ДР 5.7. Змішування та охолодження компонентів

Стерильні розчини «сольової подушки», меляси та кукурудзяного екстракту змішуються у реакторі. У рубашку реактора подається холодоагент (холодна вода питна), розчин перемішується мішалкою з частотою 120 обертів на хвилину впродовж 2 годин [41].

ДР 6. Підготовка посівного матеріалу

ДР 6.1. Відновлення музейної культури

Ліофільно висушену культуру продуценту *B. megaterium subsp. phosphaticum* 49 відновлюють на агаризованому середовищі Чапека на чашках Петрі. Чашки Петрі витримують у термостаті 7 діб при температурі 28-30 °С.

ДР 6.2. Отримання культури I генерації у колбах Ерленмеєра

Після культивування штаму продуценту до матрасів вноситься по 10 мл стерильного рідкого поживного середовища Чапека, ретельно перемішують із культурою, утворюючи суспензію, переносять у колби Ерленмеєра. У колбах культивування проходить впродовж 48 годин, при температурі 28-30 °С та на качалці (220-240 коливань на хвилину).

ДР 6.3. Отримання культури II генерації в інокуляторі

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		44

Після культивування у колбах посівний матеріал переноситься до інокулятора. Культура вирощується на тому ж поживному середовищі, що використовується при виробничому біосинтезі. Подальше культивування відбувається впродовж 48 годин, при температурі 28-30 °С та рН 6,5-7,5.

ТП 7. Виробниче культивування

Виробниче культивування продуценту *B. megaterium subsp. phosphaticum* 49 проводять глибинним методом у поживному середовищі із наступним складом: м'яса – 1,5%, кукурудзяне борошно – 2%, В-комплекс – 2%, крейда – 0,3%, фосфат калія двохзаміщений – 0,01%. Це середовище продуктивніше на 43% в порівнянні з класичним, склад якого: м'яса – 1,5%, кукурудзяний екстракт – 1,8%, сульфат амонію – 0,1%, крейда – 1%. Вихід спор із класичного поживного середовища після культивування складає 3 млрд спор/мл.

Культивування проходить у ферментері з номінальним об'ємом 2 м³ у строго асептичних умовах з примусовою аерацією очищеним стерильним повітрям. Основні параметри проведення процесу: Т=28-30 °С, рН=6,5-7,5, τ=36-48 год. Після культивування вихід продукту становить 4,3 млрд спор/мл [10].

ТП 8. Відділення біомаси від культуральної рідини.

ТП 8.1. Центрифугування.

Після культивування культуральну рідину розділяють на центрифугі 20 хв ти 5 000 об/хв. Вологість біомаси після процесу становить 75-85%.

ТП 8.2.Промивання осаду

Після центрифугування біомасу перекачують у реактор. У реакторі осад промивають питною водою. Після промивання вологість осаду складає 95%.

ТП 9. Сушіння.

Біомасу сушать на розпилювальній сушарці при температурі 65-75 °С до залишкової вологості 2-3%.

ТП 9.1. Нагрівання повітря

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						45
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		

Нагрівання повітря відбувається у калорифері продуктивністю 25000 м³/год та потужністю 668 кВт. Тепловим агентом є насичена пара Р=0,3 МПа. Повітря нагрівається до температури 150 °С.

ТП 9.2. Сушіння біомаси у розпилювальній сушарці

Після промивання осаду біомаса від ТП 7.2. направляється до сушарки. Температура теплоносія на вході $T_{вх} = 150$ °С, на виході $T_{вих} = 65$ °С. Сушіння біомаси відбувається у дисковій розпилювальній сушарці з нижньою конічною частиною та верхньою подачею теплоагенту. Сушильна камера діаметром 2,5 м та висотою 3 м з конічною нижньою частиною, виготовлена із нержавіючої листової сталі. Концентрат розпилюється центробіжним пристроєм за допомогою диску. Волога випаровується, а висушені часточки порошку осаджуються в конусному днищі. Залишкова вологість напівпродукту – 2-3%. На цьому етапі допускаються втрати до 5%.

ТП 9.3. Вивантаження напівпродукту у розвантажувальний циклон

Напівпродукт через шлюзовий затвор за допомогою системи пневмотранспорту надходить в розвантажувальний циклон. На цьому етапі допустимі втрати напівпродукту до 2%

ТП 9.4. Очищення повітря у очищувальних циклонах

Через повітропровід відпрацьоване повітря разом з дрібними часточками продукту потрапляє в систему очищувальних циклонів. Повітря віддаляється за допомогою вентилятора. Продукт падає вниз, та за допомогою системи пневмотранспорту надходить в розвантажувальний циклон.

ТП 9.5. Очищення повітря від пилу у скрубєрі Вентурі

Вхідний потік газу надходить у скрубєр Вентурі, транспортуючись по місцевому трубопроводу за допомогою вентиляторів для пневмотранспорту, у секцію, що звужується, і по мірі того, як площа поперечного перерізу потоку зменшується, швидкість газу збільшується. У той же час, збоку по патрубкам надходить рідина. Оскільки повітря змушено рухатися з дуже великими швидкостями в невеликій горловині, то тут спостерігається велика

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		46

турбулентність потоку газу. Ця турбулентність розбиває потік рідини на дуже велику кількість дуже дрібних крапель, утворюючи аерозоль. Пил, що міститься в газі, осідає на поверхні цих крапель. Залишаючи горловину, газ, перемішаний з хмарою дрібних крапель рідини, переходить в другу секцію, що розширюється, де швидкість газу зменшується, турбулентність знижується і краплі збираються в більш великі. На виході з скрубера краплі рідини з адсорбованими на них частинками відокремлюються від потоку газу. Потік повітря, що потрапляє у скрубер Вентурі, контролюється за допомогою витратоміру електромагнітного, температура робочого середовища -40-50°C.

ТП 9.6. Доочистка повітря на фільтрі

Від скрубера Вентурі повітря попадає у фільтр попереднього очищення повітря безперервної дії, де відбувається його кінцеве очищення і викид у атмосферу [42].

ТП 10. Змішування з наповнювачем.

Висушену масу спор змішують з наповнювачем – каоліном, у реакторі 1 годину при 60 об/хв мішалки. Кінцевий продукт повинен мати концентрацію спор 8 млрд. кл/г.

ПМВ 11. Пакування, маркування, відвантаження.

Готовий продукт фасується у поліетиленові водонепроникні пакети по 200 г. Зверху наклеюється етикетка. Далі пакети фасуються у картонні коробки по 10 штук. Коробки з готовою продукцією відправляються на склад.

ПВ 12. Переробка відходів.

Фільтрувальні тканини відновлюються, рідкі відходи очищуються.

ЗВ 13. Знешкодження відходів

Рідкі відходи нейтралізують та зливають у міську каналізацію, повітряні викиди очищують та випускають у атмосферу, тверді відходи знезаражують та знищують.

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		47

4.4. Матеріальний баланс

Матеріальний баланс виготовлення продукту за 1 цикл виробництва.

Таблиця 4.4.1 Матеріальний баланс на 1 цикл виробництва

Використано					Отримано				
Ста- дія	Назва сировини, матеріалів та напівпрод уктів	Кількість			Ста- дія	Назва кінцевого продукту або напівпроду кту, відходів та втрат	Кількість		
		кг	шт	л			кг	шт	л
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ДР 4	Меляса			21,6	ДР 4	Поживне середовищ е			1440
	Кукурудзя не борошно	28,8							
	В- комплекс			28,8					
	Крейда	4,32							
	Гідроорто- фосфат калію	0,144							
	Вода питна			1 356, 336					
Всього:		1440			Всього:		1440		
ДР 5	Посівний матеріал			5	ДР 5	Посівний матеріал для ТП 6			140
	Поживне середовище			139,8		Витрати з виносом повітря 3%			4,8

Продовження таблиці 4.4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Всього:		144,8			Всього:		144,8		
ТП 6	Поживне середовище від ДР 4			1300,8	ТП6	Культуральна рідина			1400
	Посівний матеріал			140		Втрати з виносом повітря 2,5%			36
						Втрати при перекачуванні з інокулятора в ферментер			4,8
Всього:		1 440,8			Всього:		1 440,8		
ТП 7	Культуральна рідина			1400	ТП 7	Промита біомаса			1400
	Промивна вода			1122,8		Фугат			1108,8
						Втрати при перекачуванні з ферментера 1%			14
Всього:		2 522,8			Всього:		2 522,8		
ТП 8	Біомаса	1400			ТП 8	Висушені спори	71		
						Пара			1259
						Втрати ~5%	70		
Всього:		1 400			Всього:		1 400		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Продовження таблиці 4.4.1

ТП 10	Висушені спори	71			ТП 9	Готовий препарат	141		
	Каолін	71				Втрати	1		
Всього:		142			Всього:		142		
ПМ В 10	Сухий препарат фосфобак- терину	141			ПМ В 10	Розфасован ий та упаковани й готовий препарат фосфобакт ерину, в тому числі: пакети етикетки коробки	140		
	Поліетиле нові пакети		700					700	
	Етикетки		700					700	
						Втрати	1		
	Коробки		70					70	
Всього:		1 611			Всього:		1 611		

4.5. Контроль виробництва

Таблиця 4.5.1 Перелік контрольних точок

Назва стадії та номер контрольної точки	Об'єкт контролю та показник, що визначаєтьс я	Метод контролю	Періодичніс ть перевірки	Нормативна характеристи ка показника
1	2	3	4	5
ДР 1.2.1 Приготування розчину миючого засобу Кх 1.2.1	Концентра- ція	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	30%

1	2	3	4	5
ДР 1.2.2 Приготування розчину перекису водню Кх 1.2.2	Концентрація	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	6%
ДР 1.2.3 Приготування розчину етанолу Кх 1.2.3	Концентрація	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	70%
ДР 1.2.4 Приготування розчину лугу Кх 1.2.4	Концентрація NaOH	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	1%
ДР 1.2.5 Приготування розчину хлорного вапна Кх 1.2.5	Концентрація	Ваги, мірний посуд	Кожну операцію	10%
ДР 1.3 Підготовка виробничих приміщень Км 1.3	Стерильність поверхонь	Мікробіологічний метод	Кожну операцію	В 1 змиві з 1м ² < 50 КУО
ДР 2.1 Підготовка насиченої водяної пари для стерилізації обладнання та нагрівання Кт 2.1	Температура Тиск	Автоматичний регулятор температури Манометр	Кожну операцію	135 °C 0,3 МПа

1	2	3	4	5
ДР 2.2 Підготовка насиченої водяної пари для стерилізації ПС КТ 2.2	Температур а Тиск	Автоматичний регулятор температури Манометр	Кожну операцію	120 °С 0,1 МПа
ДР 3.2 Мийка обладнання та комунікацій розчином лугу Кх 3.2 Кт 3.2	Концентра- ція NaOH Температу- ра Час	Дозатор, мірний посуд Термометр Годинник	Кожну операцію	1% 40 °С 10 хв
ДР 3.3. Дезінфекція обладнання хлорним вапном Кх 3.3	Концентрац ія хлорного вапна	Дозатор, Мірний посуд	Кожну операція	10%
ДР 3.5 Стерилізація обладнання, посуду, та комунікацій КТ 3.5, Км 3.5	Температу- ра Тиск Час Стериль- ність	Автоматичний регулятор температури Манометр Годинник Мікробіологічн ий метод	Кожну операцію Кожну операцію Кожну операцію Змиви там- понами 2 рази в тиждень під час виробни- чого проце- су	135 °С 0,3 МПа 2 год В 1 змиві з 1м ² < 5 КУО

1	2	3	4	5
ДР 4.1 Підготовка вентиляційно го повітря Кт 4.1, Км 4.1	Температу- ра	Автоматичний регулятор температури	Кожну операцію	20 °С
	Вологість	Психрометр	Кожну операцію	60%
	Стериль- ність	Мікробіо- логічний метод(висів на чашки Петрі), седимента- ційний метод	2 рази в тиждень під час виробничо- го процесу; 1 раз у 2 тижні за 1 - 1,5 години до початку роботи	< 200 КУО/м ³
ДР 4.2.1 Забір повітря з атмосфери Кт 4.2.1	Температу- ра	Автоматичний регулятор температури	Кожну операцію	15-25 оС
	Вологість	Психрометр		60-90%
ДР 4.2.2 Попередня очистка повітря від механічних домішок Кт 4.2.1	Ефектив- ність очистки	Імпактор до і після фільтру	Кожну операцію	80%
ДР 4.2.3 Компресу- вання та транспортуван ня повітря Кт 4.2.3	Температу- ра	Автоматичний регулятор температури	Кожну операцію	90-120 °С
	Тиск	Манометр		0,3 МПа

1	2	3	4	5
ДР 4.2.4 Стабілізація термоди- намічних показників повітря Кт 4.2.4	Температу- ра Вологість	Автоматич-ний регулятор температури Психрометр	Кожну операцію	28-30 °С 40%
ДР 4.2.5 Очистка повітря на головному фільтрі Кт 4.2.5 Км 4.2.5	Ефектив- ність очистки Стериль- ність	Імпактор до і після фільтру Мікробіологічн ий метод(висів на чашки Петрі), седиментаційн ий метод	Кожну операцію	90% < 100 КУО/м ³
ДР 4.2.6 Очистка повітря на індивідуаль- ному Кт 4.2.6 Км 4.2.6	Ефектив- ність очистки Стериль- ність	Імпактор до і після фільтру Мікробіологічн ий метод(висів на чашки Петрі), седиментаційн ий метод	Кожну операцію	99,9% < 1 КУО/м ³
ДР 5.4 Стерилізація меляси і кукурудзяного борошна Кт 5.4 Км 5.4	Температу- ра Час Стериль- ність	Автоматич-ний регулятор температури Годинник Мікробіологічн ий метод (висів на чашки Петрі)	Кожну операцію	110 °С 1-2 хв Стерильне

1	2	3	4	5
ДР 5.6 Стерилізація «сольової подушки» Кт 5.6 Км 5.6	Температу- ра	Автоматич-ний регулятор температури	Кожну операцію	120 °С
	Тиск	Манометр		0,1 МПа
	Час	Годинник		30 хв
	Стериль- ність	Мікробіологічн ий метод (висів на чашки Петрі)		Стерильне
ДР 5.7 Змішування і охолодження компонентів середовища Кт 5.7 Км 5.7	Температу- ра	Автоматич-ний регулятор температури	Кожну операцію	36 °С
	Оберти мішалки	Тахометр		120 об/хв
	Час	Годинник		2 год
	Стерильніс ть	Мікробіологічн ий метод (висів на чашки Петрі)		Стерильне
ДР 6.1 Відновлення музейної культури Км 6.1 Кт 6.1	Температу- ра	Термометр	Кожну операцію	28-30 °С
	Час	Годинник		7 діб
	Мікробіо- логічна чистота	Мікробіологічн ий метод (висів на чашки Петрі)		Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 6.2 Отримання культури І генерації у	Температу- ра	Автоматичний регулятор температури	Кожну операцію	28-30 °С
	Час	Годинник		48 год

Продовження таблиці 4.5.1

1	2	3	4	5
колбах Ерленмеєра Км 6.2 Кт 6.2	Мікробіологічна чистота	Мікробіологічний метод (висів на чашки Петрі)		Відсутність сторонньої мікрофлори
ДР 6.3 Отримання культури II генерації в інокуляторі Км 6.3 Кт 6.3	Температура Час рН Мікробіологічна чистота	Автоматичний регулятор температури Годинник рН-метр Мікробіологічний метод (висів на чашки Петрі)	Кожну операцію	28-30 оС 48 год 6,5-7,5 Відсутність сторонньої мікрофлори
ТП 7 Виробниче культивування Кт 7 Кх 7 Км 7	Температура рН Час Оберти мішалки Мікробіологічна чистота	Автоматичний регулятор температури рН-метр Годинник Тахометр Мікробіологічний метод (висів на чашки Петрі)	Кожну операцію	28-30 °С 6,5-7,5 48 220 об/хв Відсутність сторонньої мікрофлори
ТП 8.1 Центрифугування культуральної рідини Кт 8.1	Оберти центрифуги Час	Тахометр Годинник	Кожну операцію	5 000 об/хв 20 хв

Продовження таблиці 4.5.1

1	2	3	4	5
ТП 9.1 Нагрівання повітря Кт 9.1	Терперату- ра Тиск	Автоматичний регулятор температури Манометр	Кожну операцію	90 °С 0,5 МПа
ТП 9.2 Сушіння біомаси у розпилюваль- ній сушарці Кт 9.2	Температу- ра Вологість	Автоматичний регулятор температури Психрометр	Кожну операцію	65-75 °С 2-3%
ТП 9.5 Очищення повітря від пилу у скрубері Вентурі Кт 9.5	Швидкість повітря	Витратомір електромагніт- ний	Кожну операцію	150 м/с
ТП 9.6 Доочистка повітря на фільтрі Кт 9.6	Ефекти- вність очистки	Імпактор	Кожну операцію	96-99%

РОЗДІЛ 5. РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

5.1. Обґрунтування вибраної конструкції. Підбір конструкційних матеріалів для окремих елементів апарату

Залежно від способу підведення теплоти до вологого матеріалу розрізняють контактну, конвективну і радіаційну сушку. При контактній сушці теплота передається матеріалу, що висушується, теплопровідністю від нагрітих поверхонь (плит, вальців). При цьому волога, що випаровується переходить в оточуюче матеріал повітря. На початковому етапі розвитку мікробіологічної промисловості широко використовувалися барабанні і стрічкові сушарки, які були запозичені з хімічної технології. В даний час вони майже повністю витіснені сушарками, в яких використовуються більш інтенсивні способи видалення вологи. Їх головним недоліком є низька продуктивність.

При конвективному сушінні теплота, що необхідна для висушування продукту, доставляється газоподібним сушильним агентом, що виконує роль теплоносія і середовища, в яку переходить волога з матеріалу. Цей метод застосовується для сушки продуктів мікробіологічного синтезу в пневматичних, аерофонтанних, вихрових, розпилювальних сушарках і сушарках з киплячим шаром.

При радіаційній сушці інфрачервоними променями теплота передається від джерела енергії (випромінювача) електромагнітними коливаннями. Температура випромінювачів зазвичай становить від 700 до 2200 °С. Цей спосіб нагрівання застосовується при сублимаційному сушінні живих мікроорганізмів, деяких вказаних видів ферментів і інших термолабільних продуктів.

					ДП 6105.00.000 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат			
Розробив	Василенко				РОЗДІЛ 5. РОЗРАХУНОК ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО	Стадія	Аркуш
Консульт						Д	75
Керівник	Бордани					КПІ ім. Ігоря Сікорського	
Затвер							

Найбільше розповсюдження отримали розпилювальні сушарки, в яких в залежності від температурного режиму можна обробляти як термолабільні продукти, так і речовини, що допускають короточасні перегріву. Їхня основна перевага полягає в можливості утворення великої поверхні випаровування, створюваної за рахунок тонкого розпилення суспензії або розчину.

Досвід хімічної технології показав, що сушка суспензій найбільш успішно здійснюється в псевдозрідженому шарі. Суспензія наноситься на поверхню нагрітих твердих частинок тонким шаром зі швидкістю близько 1 мм / год. Для отримання частинки необхідного розміру час її перебування в сушарці має бути досить великим. При цьому частинка, здійснюючи циркуляційний рух в фонтануючому шарі, багаторазово потрапляє в зону інтенсивного нагрівання, де омивається сушильним агентом з високою температурою. В результаті довготривалої термообробки висушуваний продукт втрачає свої цінні якості [43].

Розпилювальні сушарки дозволяють досягти швидкої інтенсивності випаровування вологи за рахунок тонкого розпилення матеріалу, що висушується, у сушильній камері, через яку рухається сушильний агент (нагріте повітря або топочні гази). За сушіння у розпиленому стані питома поверхня випаровування стає настільки великою, що процес висушування закінчується надзвичайно швидко (приблизно за 15-30 секунд) [44]. Саме ця перевага порівняно з сушаркою з киплячим (псевдозрідженим) шаром обґрунтовує вибір сушарки для виробництва фосфобактерину.

Такий тип сушарок дозволяє проводити процес за достатньо м'яких режимів, які виключають високі втрати біологічно активних речовин. Центробіжне розпилення продукту дає можливість рівномірно розпилювати рідину та інтенсифікувати процес випаровування вологи. Суспензія, що висушується, проходить через диск розпилювальної головки, яка обертається з високою частотою. Завдяки цьому частинки рідини перетворюються у дуже маленькі краплі (туман) та збільшується активна

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		59

поверхня рідини.

Перевагами розпилювальних сушарок є швидкість процесу висушування, низька температура матеріалу при висушуванні, отримання продукту у вигляді дрібного порошку, що не потребує подальшого подрібнення та має гарну розчинність.

До недоліків слід віднести порівняно великі розміри сушильної камери внаслідок невеликої швидкості руху сушильного агенту та невеликої напруги камери за вологою, що випаровується. Також в ній наявні складні механізми розпилення та системи пиловловлювання та розвантаження.

Розпилювальні сушарки випускаються двох типів:

- з розпиленням вихідного матеріалу центробіжними дисками (СРЦ);
- з розпиленням вихідного матеріалу пневматичними або механічними форсунками (СРФ).

Також вони мають три виконання:

- з нижнім підведенням теплоносія та конічним днищем сушильної камери (НК);
- з верхнім підведенням теплоносія та конічним днищем сушильної камери (ВК);
- з верхнім підведенням теплоносія та плоским днищем камери (ВП) [45].

Швидкість обертання дисків у сушарці типу СРЦ складає 4000-20000 оборотів за 1 хвилину. Розпилювання центробіжними дисками без тиску застосовується для диспергування суспензій та в'язких рідин, проте потребує значно більших енергетичних затрат порівняно з механічним розпилюванням форсунками. Розпилювання механічними форсунками, у які рідина подається насосом під тиском 30-200 атм, більш економічне, проте застосовується тільки для рідин, які не містять твердих речовин. Це пов'язано з тим, що форсунки дуже чутливі до засмічення. Розпилювання пневматичними форсунками, які працюють за допомогою стиснутого повітря під тиском близько 6 атм, хоч і можна застосовувати для забруднених рідин, проте економічно недоцільне,

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						60
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		

оскільки являється найдорожчим через високі витрати енергії. Ще одним їх недоліком є неоднорідність розпилення [44].

У мікробіологічній промисловості в основному експлуатуються сушарки з дисковим розпиленням розчинів; саме такий тип сушарок є оптимальним для виробництва фосфобактерину.

Виконання ВП ускладнює вихід висушеного матеріалу.

Виконання НК сушарки не розповсюджене, оскільки швидкість осадження частинок менша, а час перебування частинок у камері більший (різниця швидкості витання частинок та швидкості сушильного агенту), проте продуктивність таких сушарок висока, а втрати термолабільних речовин є невисокими.

Найбільш розповсюджене виконання ВК, оскільки такі сушарки дозволяють проводити висушування за високих температур без перегріву матеріалу, причому швидкість осадження частинок у цьому випадку є сумою швидкості їх витання та швидкості сушильного агенту. Ще однією перевагою такого виконання є більша щільність висушеного матеріалу [46]. Виконання ВК є найбільш оптимальним варіантом для даного виробництва.

Поверхні, що контактують з робочою суспензією виконані зі сталі 12X18H10T за ГОСТ 5632-2014 [47].

5.2. Технологічний, конструктивний та тепловий розрахунки

Розрахунки, що підтверджують працездатність та надійність конструкції розпилювальної сушарки

5.2.1. Матеріальний баланс

Вихідні дані:

- Матеріал, що висушується – біомаса *B. megaterium subsp. phosphaticum* 49.
- Теплоносій – гаряче повітря.
- Продуктивність сушарки по вологому матеріалу $G_{\text{п}}$ – 700 кг/год

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		61

- Початкова вологість матеріалу w_{Π} - 95 %
- Кінцева вологість матеріалу w_K - 2 %

Метою проведення розрахунку матеріального балансу є визначення кількості води, видаленої з сушильної камери, а також продуктивності сушарки по висушеному матеріалу.

Матеріальний баланс процесу [48]:

$$G_{\Pi} = G_K + W, \quad (5.2.1.1)$$

G_{Π} - продуктивність сушарки по вологому матеріалу;

G_K - продуктивність сушарки по сухому матеріалу;

W - кількість випареної води.

Продуктивність сушарки по сухому матеріалу:

$$G_K = \frac{G_{\Pi}(100 - w_{\Pi})}{100 - w_K} = \frac{700(100 - 95)}{100 - 2} = 35,7 \frac{\text{кг}}{\text{год}}, \quad (5.2.1.2)$$

w_{Π} - початкова вологість матеріалу;

w_K - кінцева вологість матеріалу.

Кількість випареної води:

$$W = \frac{G_{\Pi}(w_{\Pi} - w_K)}{100 - w_K} = \frac{700(95 - 2)}{100 - 2} = 664,3 \text{ кг/год}, \quad (5.2.1.3)$$

Використовуючи отримані дані, запишемо рівняння матеріального балансу:

$$G_{\Pi} = G_K + W$$

$$700 \frac{\text{кг}}{\text{год}} = 664,3 \frac{\text{кг}}{\text{год}} + 35,7 \frac{\text{кг}}{\text{год}} = 700 \frac{\text{кг}}{\text{год}}, \quad (5.2.1.4)$$

Як видно, з отриманими даними рівняння матеріального балансу є дійсним.

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		62

5.2.2. Тепловий баланс

Вихідні дані:

- Матеріал, що висушується – біомаса *B. megaterium subsp. phosphaticum* 49.
- Теплоносії – гаряче повітря.
- Продуктивність сушарки по висушеному матеріалу $G_k - 35,7$ кг/год
- Початкова вологість матеріалу $w_{\Pi} - 95$ %
- Кінцева вологість матеріалу $w_k - 2$ %
- Температура теплоносія на вході в сушильну камеру $t_1 - 150$ °C
- Температура теплоносія на виході із сушильної камери $t_2 - 65$ °C
- Температура матеріалу на вході в сушильну камеру $\theta_1 - 25$ °C
- Температура матеріалу на виході із сушильної камери $\theta_2 - 45$ °C

Метою теплового балансу є визначення витрати сухого повітря та його вологовмісту. Для їх визначення нам необхідно визначити загальну витрату тепла, для визначення якої в свою чергу потрібно скласти рівняння теплового балансу.

Для того, щоб скласти рівняння теплового балансу, запишемо всі складові витрати тепла [49]:

- тепло, що витрачається на випарювання вологи:

$$Q_{\text{вип}} = W[I_2 - c_n \cdot \theta_1] = \frac{664,3}{3600} [600 \cdot 10^3 - 2 \cdot 10^3 \cdot (273 + 25)] = 738 \text{ Вт}, \quad (5.2.2.1)$$

I_2 - ентальпія вторинної пари;

c_n - теплоємність водяної пари;

θ_1 - температура матеріалу на вході в сушильну камеру;

- тепло, що витрачається на нагрів матеріалу:

$$Q_{\text{нагр}} = G_k c_m (\theta_2 - \theta_1) = \frac{35,7}{3600} \cdot 3000 \cdot (45 - 25) = 595 \text{ Вт}, \quad (5.2.2.2)$$

c_m - теплоємність матеріалу;

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		63

- втрати тепла в навколишнє середовище (приймаємо їх рівними 15% від перших двох складових):

$$Q_{\text{витрат}} = 0,15(Q_{\text{вып}} + Q_{\text{нагр}}) = 0,15(738 + 595) = 200 \text{ Вт.} \quad (5.2.2.3)$$

Рівняння витрати тепла:

$$Q = Q_{\text{вып}} + Q_{\text{нагр}} + Q_{\text{витрат}} = 738 + 595 + 200 = 1,5 \text{ кВт.} \quad (5.2.2.4)$$

Абсолютну витрату повітря визначаємо за формулою:

$$L = l_0 \cdot W = 16 \cdot \frac{664,3}{3600} = 3 \text{ кг/кг.} \quad (5.2.2.5)$$

Визначимо питомі витрати сухого повітря:

$$l = \frac{1}{x_2 - x_1} = \frac{1}{0,0722 - 0,01} = 16 \text{ кг/кг,} \quad (5.2.2.6)$$

де x_1 та x_2 вологовміст перед калорифером та на виході із сушильної камери відповідно.

Параметри повітря перед калорифером : $t_0 = 20^\circ\text{C}$, $\phi_0 = 70\%$.

Для визначення вологовмісту перед калорифером (x_1), на виході із сушильної камери (x_2) та ентальпії вторичної пари, використаємо І-х діаграму Рамзіна (рисунок 5.2.2) і отримаємо:

$$x_1 = 0,01 \text{ кг/кг;}$$

$$x_2 = 0,0722 \text{ кг/кг;}$$

$$I_2 = 600 \text{ кДж/кг.}$$

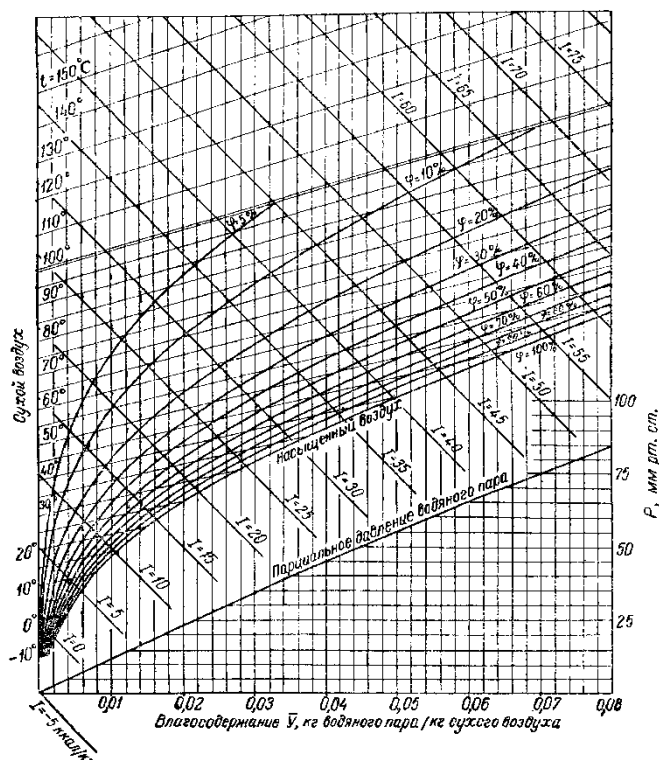


Рисунок 5.2.1. I-x діаграма Рамзіна

Проведемо розрахунок теплової ізоляції сушарки, метою якого є визначити товщину ізоляції [44].

Матеріал, ВМСТ ГОСТ 4640-93, який обраний для термоізоляції, має коефіцієнт теплопровідності $\lambda_i = 0,72 \text{ Вт}/(\text{м} \cdot \text{К})$. Приймаємо температуру зовнішньої поверхні стінки $t_{\text{ст}} = 100^\circ\text{C}$. Температуру зовнішнього середовища $t_0 = 20^\circ\text{C}$. Тоді товщина шару ізоляції:

$$s_i = \frac{\lambda_i(t_1 - t_{\text{ст}})}{\alpha_3(t_{\text{ст}} - t_0)} = \frac{0,72(120 - 100)}{21,6(100 - 20)} = 0,013 \text{ м}, \quad (5.2.2.7)$$

де $\alpha_3 = 7,3 + 0,058 t_{\text{ст}} = 7,3 + 0,058 \cdot 383 = 21,6 \text{ Вт}/(\text{м} \cdot \text{К})$ – коефіцієнт тепловіддачі зовнішньої поверхні апарата в навколишнє середовище.

Приймаємо товщину шару ізоляції $s_i = 0,02 \text{ м}$.

5.2.3. Конструктивний розрахунок

Метою даного розрахунку є визначення основних габаритних розмірів сушильної камери. Параметри, що розраховуються представлені на рис. 5.2.2.

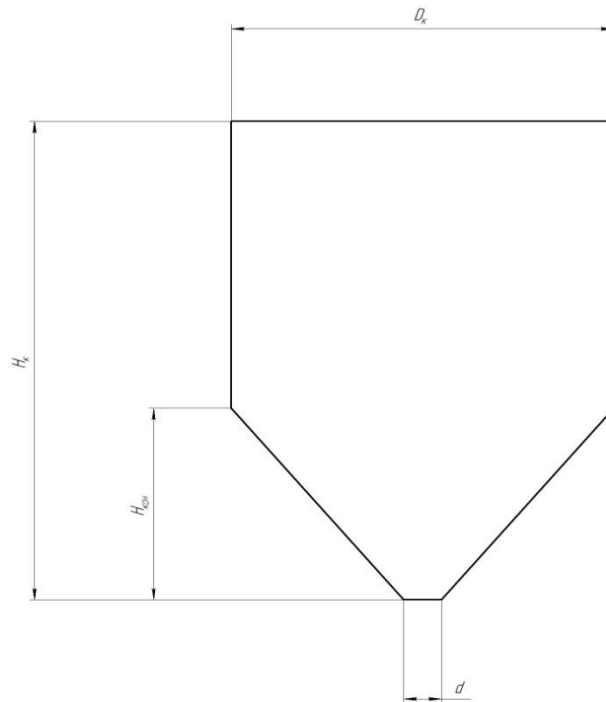


Рисунок 5.2.2. Схема геометричного розрахунку

Визначаємо швидкість повітря по емпіричній формулі [50]:

$$v_B = 0,0127 \cdot \sqrt{W} = 0,0127 \cdot \sqrt{664,3} = 0,33 \text{ м/с.} \quad (5.2.3.1)$$

Площа перерізу сушильної камери:

$$F_K = \frac{L}{\rho_c \cdot v_B} = \frac{3}{0,835 \cdot 0,33} = 10,88 \text{ м}^2, \quad (5.2.3.2)$$

де ρ_c – густина повітря при $t_1 = 150^\circ\text{C}$.

Визначаємо діаметр камери по пропускній здатності повітряного потоку:

$$D_K = \sqrt{\frac{4 \cdot F_K}{\pi}} = \sqrt{\frac{4 \cdot 10,88}{3,14}} = 3,72. \quad (5.2.3.3)$$

Висота сушильної камери при геометричному коефіцієнті $K=1,4$:

$$H_K = 1,4 \cdot D_K = 1,4 \cdot 3,72 = 5,21 \text{ м.} \quad (5.2.3.4)$$

Висота конічної частини сушильної камери:

$$H_{\text{кон}} = 0,4 \cdot H_K = 0,4 \cdot 5,21 = 2,08 \text{ м.} \quad (5.2.3.5)$$

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		66

Визначимо об'єм сушильної камери:

$$V_k = \frac{\pi \cdot D^2}{4} \cdot H_k = \frac{3,14 \cdot 3,72^2}{4} \cdot 5,21 = 56,6 \text{ м}^3. \quad (5.2.3.6)$$

5.3. Вибір загальнозаводського обладнання

5.3.1. Фільтри

Для запобігання абразивного зношення компресійного обладнання необхідне видалення механічних частинок з повітря, що поступає у вентилятор. Частки, у яких діаметр більший за 5 мкм, залишаються на фільтрі. Він має такі характеристики: фільтр попереднього очищення повітря запиленістю до 5мг/м³ неперервної дії коміркового типу заповнений 12 металічними гофрованими сітками, що змащені маслом. Пилоємність фільтру 200г/м². Ефективність очистки 75%.

5.3.2. Манометри

Тиск контролюється за допомогою диференціального цифрового манометру, що призначений для вимірювання тиску, розрідження і різниці тисків газів, а також для визначення швидкості та об'ємної витрати газопилових потоків за допомогою напірних трубок "НИИОГАЗ" або "Піто" по ГОСТ 17.2.4.06-90; ГОСТ 8.361- 79 [51,52].

5.3.3. Калорифер

Нагрівання повітря здійснюється у калорифері К-20 продуктивністю 25000 м3/год та потужністю 668 кВт. Тепловим агентом є насичена пара Р=0,3 МПа.

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докum.	Підпис	Дат		67

5.3.4. Термоперетворювачі

Контроль температури нагріву повітря здійснюється за допомогою мідних термоперетворювачів опору, які мають наступні показники: діапазон вимірювання -50...150°C, похибка $\pm 1\%$.

5.3.5. Вентелятори

Повітря віддаляється за допомогою вентилятора В-23, характеристика якого: вентилятор відцентровий пиловий для пневмотранспорту. Продуктивність 30000м³/год.

5.4. Вимоги до охорони праці та навколишнього середовища

Задля запобігання термічних опіків працівників, дискову розпилювальну сушарку необхідно теплоізолювати після встановлення в робоче положення.

При роботі з сушаркою рекомендується використовувати спецодяг та респіратори, через високу концентрацію висушеної спорової маси *B. megaterium* subsp. *phosphaticum* 49 у повітрі. Регулярне вдихання такого повітря без захисних засобів може призвести до респіраторних захворювань, таких як хронічна астма.

Оскільки у даному виробництві використовується конвективна сушарка, теплоагентом якої є повітря, після сушіння повітряні маси не можна викидати в атмосферу тому, що у ньому ще знаходиться якийсь відсоток зважених частинок спорової маси. Тому повітря потрібно відправити на очистку.

Першим кроком очищення повітря є система очищувальних циклонів-пилоуловлювачів. На них вдається очистити повітря на 85-90% від зважених часточок.

Далі повітря очіщується на скрубєрі Вентурі. Часточки пилу, що залишилися у повітря осідають на краплинках води, що розпризкує скрубєр всередині. На виході з скрубєра краплі рідини з адсорбованими на них

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		68

частинками відокремлюються від потоку газу. Скрубер очищує повітря до 95-98%.

Останнім етапом очистки повітря є доочистка повітря на фільтрі. Фільтр попереднього очищення безперервної дії очищає повітря на 99,99%, після чого відбувається вики повітряних мас в атмосферу [44].

					ДП 6105.00.000 ПЗ	Арк.
						69
Зм.	Арк	№ докум.	Підпис	Дат		

ВИСНОВКИ

1. В проєкті виробництва препарату фосфатмобілізуєчих мікроорганізмів «Фосфобактерин» обрано продуцент *Bacillus megaterium subsp. phosphaticum* 49, що володіє вираженими фосфатмобілізуєчими властивостями.
2. Проаналізовано методи селекції *B. megaterium* та запропоновано схему отримання продуценту шляхом штучного відбору на основі здатності до солюбілізації нерозчинних фосфатів.
3. Обрано склад поживного середовища для виробничого біосинтезу на основі меляси, кукурудзяного борошна, В-комплексу (відходу виробництва вітаміну Д), фосфату калія двохзаміщеного та карбонату кальцію, що забезпечує вихід спор $4,3 \cdot 10^9$ спор/мл культурального середовища.
4. Визначені раціональні параметри культивування продуценту: Т - 28-30 °С, рН - 6,5-7,5, аерація - $1 V_{\text{пов}}/V_{\text{ПС}} \times \text{хв}$, тривалість 48 год.
5. Запропоновано використання промивки осаду спор після центрифугування, як технологічний прийом, що дозволить запобігти швидкому забиванню розпилювального диску.
6. Відповідно до визначених фізико-хімічних та біологічних характеристик продукту для його сушіння обрана і розрахована конструкція дискової розпилювальної сушарки продуктивністю 50 кг/год, яка дозволяє отримати препарат належної якості з залишковою вологістю 2-3%.
7. У відповідності до вимог до готової форми та якості продукту, розроблено технологічну і апаратурну схеми виробництва препарату фосфатмобілізуєчих мікроорганізмів «Фосфобактерин» в пакетах по 200 г.

					ДП 6105.00.000 ПЗ		
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дат	СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	Стдія	Аркуш
Розробив		Василенко				Д	75
Консульт							
Керівник							
Затверд							